

EasySep™ Release 人 CD4 正选试剂盒



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17752
#17752RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035751 | 版本00

产品介绍

从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高纯度的 CD4+ 细胞。

- 在30分钟内分离出高纯度的人CD4+细胞
- 无需清洗去除EasySep™ Releasable RapidSpheres™

该试剂盒使用识别CD4表面标志物的抗体复合物和EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 来正选 CD4+ 细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记, 并通过EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒弃去, 而目的细胞则保留在试管中。随后, 结合在EasySep™ 分离的 CD4+ 细胞上的磁珠被解离, 这些细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、细胞培养或DNA/RNA提取。使用该EasySep™ Release 试剂盒分选之后, 细胞表面仍结合有抗体复合物, 并可能与Brilliant Violet™ 偶联的抗体、聚乙二醇修饰的蛋白质或其他化学相关配体相互作用。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Release 人CD4 正选抗体混合物	17752C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 50201	50201	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。
EasySep™ Release 缓冲液 (浓缩)	20165	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	用于正选后从细胞上解离 Releasable RapidSpheres™ 的缓冲液。

BSA - 牛血清白蛋白; PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输, 但应按照上述说明进行储存。

RoboSep™ Release 人CD4 正选试剂盒 (17752RF) 中包含EasySep™ EasyTube™ - 14 (产品号 #20128) 以达到最佳的自动分选效果。进行手动分选时, 不需要使用EasySep™ EasyTube™ - 14。

样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC, 可以使用 SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或 SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分离管。

如果使用冻存的PBMCs, 在室温 (15 - 25°C) 用终浓度为 100µg/mL 的 DNase I 溶液 (产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟, 再进行标记和分选。使用 37 µm 的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用, 其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区, SepMate™仅限于研究用途 (RUO)。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。

在室温 (15 - 25°C) 下, 300 x g 离心10分钟。如果需要裂解红细胞, 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。如果需要去除血小板, 请在关闭刹车的情况下以120 x g 离心10分钟。去除上清液, 并将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144) 或含2% FBS和1mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca++和Mg++。

使用指南 – EasySep™ 手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™ Release 人 CD4 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极	
		 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy”™ (产品号 #18001)
1	稀释Release Buffer (浓缩) 以制备Release Buffer (1X)。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。
2	按指定细胞浓度制备样本, 样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	100 µL/mL样本	100 µL/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
4	涡旋Releasable RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将Releasable RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> • 若样本 ≤ 3 mL, 定容至5 mL • 若样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾倒上清液。从磁极中取出试管; 该试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)
9	添加Release buffer (1X), 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> • 若起始样本 ≤ 3 mL, 定容至5 mL • 若起始样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
10	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾倒富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒, 然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™ Release 人 CD4 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极		
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL流式管	 EasyEights™ (产品号 #18103) 14 mL流式管
1	稀释Release Buffer (浓缩) 以制备Release Buffer (1X)。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。
2	按指定细胞浓度制备样本, 样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中 (若使用EasyPlate™ EasySep™ 磁极, 将样本加到96孔板中)。	圆底, 非TC处理的96孔板 (如: 产品号 #38018)	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
4	涡旋Releasable RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
5	将Releasable RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至0.25 mL	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 3 mL, 定容至5 mL ●若样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	将试管或孔板 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。从磁极中取出含有分选后的细胞的试管或孔板。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)
9	添加Release buffer (1X), 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至0.25 mL	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 3 mL, 定容至5 mL ●若样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
10	将试管或孔板 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如, 对于EasyEights™ 5 mL 流式管, 使用一个 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL 流式管, 使用一个10 mL 血清移液管[产品号 #38004]) 。

使用指南 – RoboSep™ 全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™ 的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™ Release 人 CD4 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	<ul style="list-style-type: none"> 对于 ≤ 3 mL 的样本: 人CD4 Release正选 17752 - 小体积 对于 > 3 mL 的样本: 人CD4 Release正选 17752 - 大体积 	
3	涡旋Releasable RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	注: 当提示放置分选试管时, 将EasySep™ EasyTube™ - 14 放入磁极中。 按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后, 卸载转盘, 取出装有目的细胞的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

EASYSEP™ RELEASE BUFFER 解离缓冲液

EasySep™ Release Buffer (浓缩) 是40X 浓缩液; Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。要制备Release buffer (1X), 请使用推荐缓冲液以1: 40的比例进行稀释。所需体积请参阅表1或表2的步骤9。

纯度评估

EasySep™ Release 人 CD4 正选抗体混合物使用的抗CD4抗体克隆会完全或部分阻断我们已知的所有用于流式细胞术评估纯度的抗CD4抗体克隆。要通过流式细胞术评估CD4+ 细胞的纯度, 请使用以下克隆号的流式抗体:

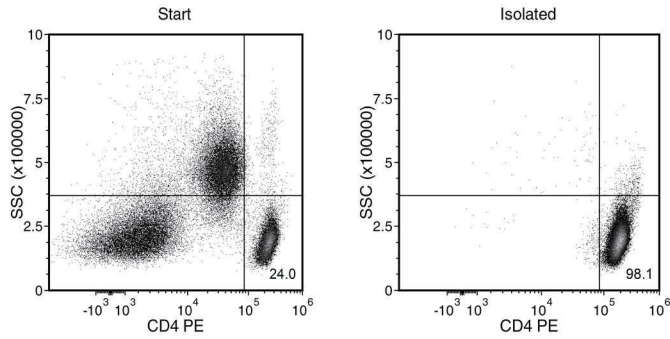
- 抗人CD4抗体, 克隆号 OKT4 (产品号 #60016; 部分阻断)

注意: 在使用Brilliant Violet™ 偶联抗体进行流式细胞仪或荧光显微镜分析之前, 需要在EasySep™ Release 分选的细胞上仔细滴定Brilliant Violet™ 偶联抗体。使用Brilliant Violet™ 偶联进行纯度评估时, 建议使用BD Horizon Brilliant™ 染色缓冲液以减少非特异性相互作用。如需了解更多信息, 请参阅厂商的说明或通过info.cn@stemcell.com与我们联系。

还可以使用以下方法之一:

- 使用替代标志物, 如荧光抗人CD3抗体, 克隆号UCHT1 (产品号 #60011) 和抗人CD8a抗体, 克隆号RPA-T8 (产品号 #60022) 来检测 CD3+CD8- 细胞。
- 使用荧光二抗, 例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号#60138)。

实验数据



起始样本为人PBMCs单细胞悬液，分选后的CD4+ T细胞含量通常可达 $96.1 \pm 4.1\%$ （平均值 \pm 标准差；使用紫色EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为24.0%和98.1%。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、EasyTube、RapidSpheres、RoboSep 和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG制造。Brilliant Violet是Singen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。