

EasySep™ HLA 嵌合全血 CD3 正选试剂盒

可处理 60 mL 白膜层 (buffy coat) 或全血

产品号 #17871
#17871RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035753 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠正选从新鲜人全血或白膜层 (buffy coat) 中分离高纯度的CD3+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱
- 兼容“*The Big Easy*”磁极、EasyEights™磁极和RoboSep™-S

该试剂盒使用识别CD3表面标志物的抗体来正选CD3+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。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ HLA嵌合全血CD3正选抗体混合物	17871C	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含 2% HPCD和 0.09% rHA的PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50101磁珠	50101	3 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™红细胞裂解缓冲液, 10X浓缩液	20110	10 mL	15 - 25°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	10X浓缩的红细胞裂解试剂。

HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精; PBS - 磷酸盐缓冲液; rHA - 重组人白蛋白

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。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™红细胞裂解缓冲液 (1X稀释液)	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	可稳定存放不超过 3 个月。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期 (EXP)。

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

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

白膜层 (buffy coat)

1. 在全血样本中加入等体积的推荐缓冲液。
2. 在室温下 (15 - 25°C), 以800 x g离心10分钟 (关闭离心机刹车)。
3. 吸取浓缩的白细胞层 (即白膜层), 以及一小部分血浆和浓缩的红细胞 (RBC)。其目的是将白细胞浓缩大约5倍, 同时保持血细胞比容不变 (例如, 当起始样本为10 mL全血时, 收集2 mL的白膜层)。
4. 将最多4.5 mL的白膜层转移到所需的试管中 (参见表1 - 3)。

白细胞减除术样本

如果处理白细胞减除术 (LRSC) 样本, 请查阅适用的PIS (文档号 #1000006427)。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144), RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104); 或者含 2%胎牛血清 (FBS)和 1 mM 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™ HLA 嵌合全血 CD3 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™磁极
步骤	说明	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
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。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
6	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> ●若稀释的样本 ≤ 2.5 mL，定容至 5 mL ●若稀释的样本 > 2.5 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 3 分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	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 3 分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 保持磁极和试管倒置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™ HLA 嵌合全血 CD3 正选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™磁极
步骤	说明	 EasyEight™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
1	制备样本, 样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
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。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
6	添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> ●若稀释的样本 ≤ 2.5 mL, 定容至 5 mL ●若稀释的样本 > 2.5 mL, 定容至 10 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育 10 分钟
7	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。从磁极中取出试管; 试管中含有分选后的细胞。	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 10 分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

** 使用单个移液管一次性收集全部上清液 (例如, 对于EasyEight™ 14 mL试管, 使用 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™ HLA 嵌合全血 CD3 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	向样本中添加1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积
3	选择实验程序。 注：输入体积。	HLA嵌合CD3 WB正选 17871 注：输入稀释后的样本体积。
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮
6	运行完成后，卸载转盘。取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

注意事项和提示

EasySep™红细胞裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™红细胞裂解液为 10 倍浓缩液。在使用时至少提前 1 小时制备1X 裂解液，将 1 份 10X 裂解液加入 9 份蒸馏水或 I 类水*中。使用前需轻柔且充分地混匀。

* I 类水是指适用于分析流程的超纯水。美国材料与试验协会 (ASTM) 将其定义为电阻率 > 18 MΩ-cm、电导率 < 0.056 μS/cm以及总有机碳 (TOC) < 50 ppb。

纯度评估

EasySep™ HLA嵌合全血CD3 正选抗体混合物使用的抗CD3 抗体克隆可能会阻断我们已知的用于流式细胞术评估纯度的其他抗CD3抗体克隆。可使用以下方法之一来评估纯度：

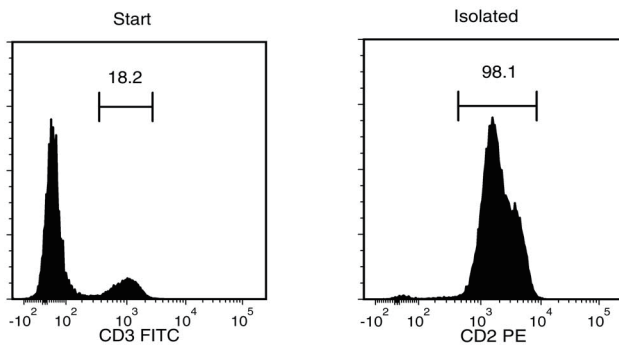
- 使用替代标志物，例如荧光抗人CD2 抗体，克隆RPA-2.10 (产品号 #60007)，以检测CD2+细胞。
- 使用替代标志物，例如荧光抗人CD5 抗体，克隆UCHT2 (产品号 #60082) 和抗人CD20 抗体，克隆 2H7 (产品号 #60008) 以检测CD5+CD20- 细胞。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在FSC vs. SSC图上显示为明显的高侧向角散射 (SSC) 群。可使用抗dextran、CD41和CD45的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。通过清洗去除供体的血浆可以避免可能的聚团。使用推荐缓冲液将样本稀释 2 倍，并以300 x g离心10 分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的FSC vs. SSC特征或CD45表达的缺失来将其排除在外。

实验数据



起始样本为人全血，分选后的CD3+细胞含量通常为 92.4 - 99.8%（分别使用抗CD3或抗CD2抗体对起始样本和分选后的样本进行染色来评估）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为18.2%和98.1%（以CD45+设门）。

注意：流式分析前起始样本中的红细胞已通过裂解去除。

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、EasySep、EasyEights、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.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。