

EasySep™ Direct 人T细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19661
#19661RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035814 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选直接从全血中分离高纯度的T细胞。

该试剂盒的优势有：

- > 99.9%的红细胞去除率，无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 分选获得的细胞纯度高达97%
- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别特异性细胞表面标志物的抗体来去除非T细胞。非目的细胞用抗体和EasySep™ Direct RapidSpheres™磁珠标记，使用EasySep™磁极进行分选。轻松地将目的细胞收集到新试管中，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™ Direct人T细胞分选抗体混合物	19661C	2 x 2.5 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300磁珠	50300	4 x 2.5 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠和单克隆抗体悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，并在收到后立即冷藏。

抗体混合物中可能会观察到沉淀，但不会影响使用效果。

样本制备

外周血

为了最佳去除红细胞，请使用肝素或酸式枸橼酸盐葡萄糖（ACD）作为抗凝剂来收集血液。不建议使用K2EDTA或K3EDTA作为抗凝剂。

为了获得最佳回收率，请使用未经处理的人全血。如样本存放时间超过24小时，目的细胞的回收率会降低。

可处理的血液样本量取决于分选过程中所用的EasySep™磁极。血液样本必须放置在所需的试管中，并正确地放入合适的EasySep™磁极中（参见表 1 和 2）。

白膜层（可选 - 与RoboSep™一起使用）

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（RBCs）。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，当起始全血量为10 mL时，收集2 mL的白膜层）。
4. 将白膜层转移到所需的试管中（参见表3）。

推荐缓冲液

D-PBS（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37350）。

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™ Direct 人 T 细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	收集一定体积范围内的样本。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7 mL
	将全血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)
2	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
5	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5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 ≤ 5 mL, 定容至两倍样本体积 · 若样本 > 5 mL, 定容至10 mL
7	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
8	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管, 倾倒入富集的细胞悬液*至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	从磁极中取出流式管, 然后将第9步中的试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第二次分选。	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**, 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	使用新的14 mL流式管
12	从磁极中取出流式管, 然后将第11步中的新试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第三次分选。	---	室温孵育5分钟
13	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管**, 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	---	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 第一次磁珠分选后, 收集的细胞中可能含有大量红细胞, 并且看起来可能与起始未处理的人全血样本相似。

** 为了最大限度地减少目的细胞中的红细胞污染, 请沿着试管的干净区域 (即倒入样本时使用的对面一侧) 倒出样本。

表2. EasySep™ Direct 人 T 细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 EasyEights™ (产品号 #18103)	 Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	收集一定体积范围内的样本。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7 mL	7 - 30 mL
	将全血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)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
5	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5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	· 若样本 ≤ 5 mL, 定容至两倍样本体积 · 若样本 > 5 mL, 定容至10 mL	· 若样本 ≤ 25 mL, 定容至两倍样本体积 · 若样本 > 25 mL, 定容至50 mL
7	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	室温孵育10分钟
8	小心地吸出*** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 自上而下收集所有清澈的部分。为了获得最佳回收率, 可一并收集少量红细胞 (最多为起始样本体积的10%)。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	从磁极中取出流式管, 然后将第9步中的试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第二次分选。	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。 注意: 只收集清澈的部分。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
12	从磁极中取出流式管, 然后将第11步中含富集细胞的新试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	小心地吸出*** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 只收集清澈的部分。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞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富集的细胞悬液 (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。

注意：如果使用RoboSep™-S，请确保软件版本至少为v.1.2.0.2，并且安装了与RoboSep™ Direct兼容的转盘。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

表3. RoboSep™ Direct 人 T 细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	制备样本，样本体积在范围内。	对于血液：1 - 6 mL 对于白膜层：2 - 5 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	选择实验流程。	<ul style="list-style-type: none"> EasySep™ Direct人T细胞分选19661 - 全血 EasySep™ Direct人T细胞分选19661 - 全血 - 高红细胞去除† EasySep™ Direct人T细胞分选19661 - 白膜层‡ 	
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 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。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

† 该方案可高效去除红细胞，但回收率略有降低。

‡ 该方案使用两倍的 EasySep™ 试剂。

注意事项和提示

去除分选的细胞中残留的红细胞

细胞分选后通常不需要进一步去除红细胞。如果实验流程结束后离心，在分选的细胞沉淀中仍然可见残留的红细胞，请使用小体积 (0.2 - 2.5 mL) 推荐缓冲液或所需的培养基重悬，并置于更小的EasySep™磁极中进行额外5分钟的分选。收集上清液；分选后的细胞可直接用于下游应用。残留的红细胞也可以使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 裂解。

纯度评估

要通过流式细胞术评估T细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

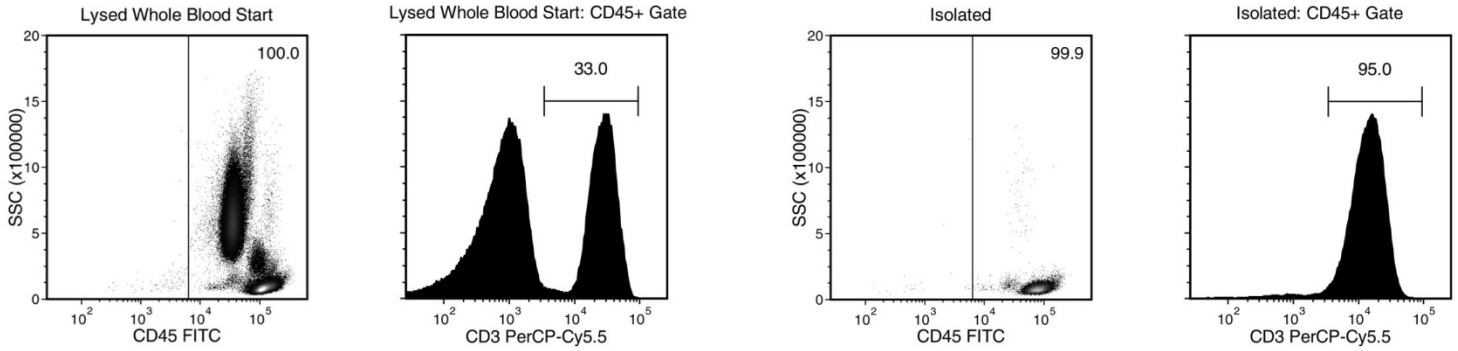
还可以使用替代的荧光标志物评估纯度，例如：

- 抗人CD4抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016)，以及
- 抗人CD8抗体，克隆RPA-T4 (产品号 #60022)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆号HI30

注：建议评估CD45+细胞的纯度，以排除碎片、血小板和红细胞。如有必要，请加入活性检测染料 (例如Propidium Iodide (PI) [产品号 #75002] 或 7-AAD [7-Aminoactinomycin D; 产品号 #75001])。

实验数据

起始样本为来自正常健康供者的全血，未裂红的分选后的T细胞（CD3+）含量通常为 $95.3 \pm 1.4\%$ （以CD45设门）或 $94.9 \pm 1.5\%$ （未以CD45设门）。



在上述示例中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的样本中，T细胞（CD3+）含量分别为33.0%和95.0%（以CD45设门），或33.0%和94.9%（未以CD45设门）。未裂红的全血起始样本中的T细胞含量为0.059%（数据未显示）。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。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。

版权所有©STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep、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。