

EasySep™ 人 Pan-CD25 正选和去除试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17861

正选

文档号 #10000035819 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠分选从新鲜的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或裂解的白细胞单采术样本中分离或去除CD25+细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- CD25+细胞的去除率高达1.3个对数级
- 纯度高达98%

该试剂盒使用识别CD25表面标志物的抗体来去除或分离CD25+细胞。CD25+细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。未标记的细胞通过倾倒弃去，而标记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、体外检测或细胞培养。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人Pan-CD25正选和去除抗体混合物	17861C	1 x 1 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，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	2 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。

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。

样本制备

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) 细胞分选管。

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)。

裂解的白细胞单采术样本

1. 将4份氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到1份白细胞单采术样本中。

注: 如果使用样本体积较大 (> 20 mL)，请首先以300 x g 离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液，并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞 (例如，对于30 mL细胞样本，重悬于3 mL推荐缓冲液中，并添加12 mL氯化铵溶液)。对于小体积样本 (≤ 20 mL)，将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。

3. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温 (15 - 25°C) 下以300 x g离心10分钟。去除上清液。

4. 可选 (去除血小板):

a. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下，关闭刹车，将细胞以120 x g离心10分钟。小心地去除上清液。

b. 重复步骤4a一次或多次，直至去除大部分血小板 (标志是上清液变澄清)。

5. 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™人 Pan-CD25正选操作流程

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
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 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将Pan-CD25正选和去除抗体混合物添加到样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	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
5	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 ≤ 2 mL，定容至2.5 mL 若样本 > 2 - 4 mL，定容至5 mL 若样本 > 4 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	室温孵育3分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒下清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
7	重复以上步骤。	重复三次步骤5和6 (总共进行4次3分钟的分选)	重复三次步骤5和6 (总共进行4次3分钟的分选)
8	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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°)

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

表2.EasySep™人 Pan-CD25 去除操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
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 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将Pan-CD25正选和去除抗体混合物添加到样本中。 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10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	200 µL/mL 样本	200 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
5	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 ≤ 2 mL，定容至2.5 mL · 若样本 > 2 - 4 mL，定容至5 mL · 若样本 > 4 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
6	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
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（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
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。	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)

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

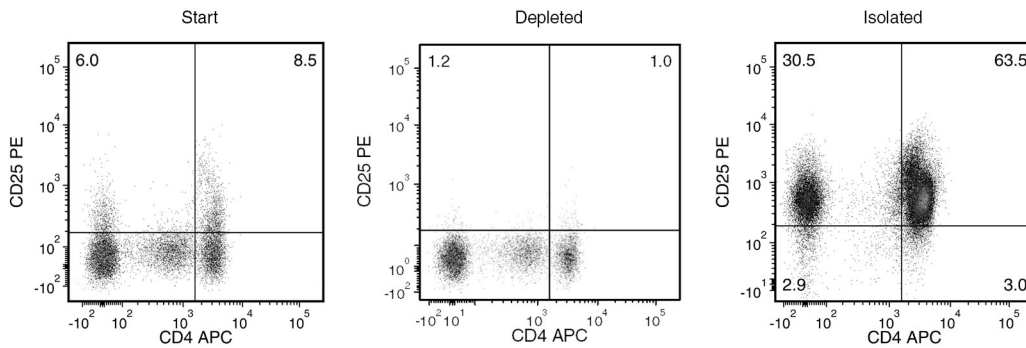
注意事项和提示

纯度评估

EasySep™人Pan-CD25正选和去除抗体混合物使用的CD25 抗体克隆识别CD25抗原的表位B，并可能会阻断一些用于通过流式细胞术评估纯度的CD25抗体克隆。要通过流式细胞术评估CD25+细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD25抗体，克隆2A3（产品号 #60153），或抗人CD25抗体，克隆BC96（产品号 #60158），这些抗体克隆识别CD25抗原的表位A，以及
- 抗人CD4抗体，克隆RPA-T4（产品号 #100-0307）

实验数据



起始样本为新鲜PBMCs，去除后CD25+细胞的内容通常为2 - 5%。在上述实验中，起始和去除后的CD25+细胞纯度分别为14.5%和2.2%，CD25+细胞的去除率为1.3个对数级。

使用正选方法分选后的CD25+细胞含量通常为81 - 98%。在上述实验中，最终分选后的细胞纯度为94%。

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、RoboSep和SepMate是STEMCELL Technologies 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生产的。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。