

EasySep™人 CD4 正选试剂盒II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17852

#17852RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035820 | 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，在短至15钟内从新鲜或冻存的人外周血单核细胞（PBMCs）或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高度纯化的CD4+细胞。

- 快速、简单
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒通过识别CD4表面标志物的抗体来正选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。不需要的细胞通过倾倒弃去，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™人CD4正选抗体混合物II	17852C	1 x 0.5 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含10% HPCD的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	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。

HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精；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

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）离心，从全血中制备外周血单个核细胞（PBMCs）悬液。为了更快地制备PBMCs，可以使用SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。

如果使用冻存的PBMCs，在室温（15 - 25°C）下用终浓度为100 µg/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）过滤细胞悬液去除聚团，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，500 x g，离心10分钟。如果需要裂解红细胞（RBC），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）、RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）或含有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™人 CD4 正选试剂盒II的操作流程

		EASYSEPT™ 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 0.25 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 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)
2	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
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
3	涡旋振荡 RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 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"> • 若样品 < 1 mL, 定容至5 mL • 若样品 ≥ 1 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流式管*，倾倒入上清液。从磁极上取下流式管；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。	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)
8	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人 CD4 正选试剂盒II的操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103) 	Easy 50 (产品号 #18002) 	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
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 0.25 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 5 - 20 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)	50 mL (30 x 115 mm) 锥型管 (如: 产品号 #38010)
2	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	50 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
3	涡旋振荡 RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 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
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	· 若样品 < 1 mL, 定容至5 mL · 若样品 ≥ 1 mL, 定容至10 mL	· 若样品 < 10 mL, 定容至25 mL · 若样品 ≥ 10 mL, 定容至50 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育15分钟	室温孵育10分钟
6	小心地吸取**（不要倒出）上清液。从磁极上取下流式管；管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
7	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	· 若样品 < 1 mL, 定容至5 mL · 若样品 ≥ 1 mL, 定容至10 mL	· 若样品 < 10 mL, 定容至25 mL · 若样品 ≥ 10 mL, 定容至50 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
8	小心地吸取**（不要倒出）上清液。从磁极上取下流式管；管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
9	重复以上步骤。	步骤7和8 (总共进行3次10分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次15分钟和2次10分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行3次10分钟的分选)
10	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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的上清液 (EasyEights™ 5 mL 流式管使用一个 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]; 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™人 CD4 正选试剂盒II的操作流程

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。	人 CD4 正选II 17852	
3	涡旋振荡 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。	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，然后将细胞重悬于所需的培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

纯度评估

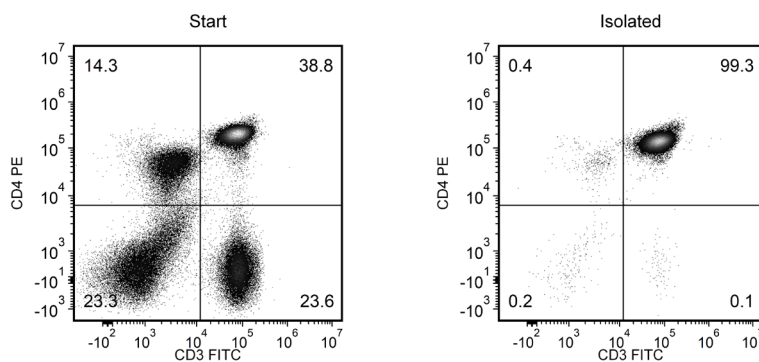
EasySep™人 CD4 正选抗体混合物II使用的抗CD4抗体克隆号可能会阻断用于流式细胞术评估纯度的其它抗CD4抗体克隆号。要通过流式细胞术评估CD4+细胞的纯度，请使用以下荧光流式抗体：

- 抗人CD4抗体，克隆号OKT4（产品号 #60016）

还可以使用以下方法之一：

- 使用替代标志物，例如荧光染料偶联的抗人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）。CD4+ T细胞的表型为CD3+CD8-。
- 使用荧光染料偶联的二抗，例如山羊抗小鼠IgG（H+L）多克隆抗体（产品号 #60138FI）。

数据



起始样本为新鲜的人PBMCs单细胞悬液，分选后的CD4+ T细胞（CD3+CD4+）含量通常为96.3 ± 3.0%（平均值 ± 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细胞纯度分别为38.8%和99.3%。

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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG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。