

EasySep™小鼠 CD25 调节性T细胞 正选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #18782
#18782RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035826 | 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小鼠脾细胞或其它单细胞悬液中分离高纯度的CD25+细胞。当使用其它类型组织来源的单细胞悬液时，该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快速
- 纯度高达93%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD25表面标志物的PE标记的抗体来正选CD25+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。

如果从同一样本中分离CD4+CD25- T细胞，请在开始实验之前通过info.cn@stemcell.com与我们联系，以获取使用EasySep™小鼠CD4+ T细胞分选试剂盒（产品号#19852）的更新的实验流程。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD25调节性T细胞正选抗体混合物	18782C	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0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ PE分选抗体混合物	18151	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。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	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。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18731	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0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。

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。

样本制备

脾脏

在推荐缓冲液中机械解离脾脏。使用70 μm细胞滤筛（如产品号 #27215）过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。以300 x g 离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

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™小鼠 CD25 调节性T细胞正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	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	在样本中加入FcR阻断剂。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	在样本中加入正选抗体混合物。 注意: 不要滴旋抗体混合物。	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
4	在样本中加入PE分选抗体混合物。 注意: 不要滴旋抗体混合物。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	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。	定容至2.5 mL	· 若样本 < 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
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入上清液。从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
9	重复以上步骤。	重复三次步骤7和8 (总共进行4次5分钟的分选)	重复三次步骤7和8 (总共进行4次5分钟的分选)
10	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°C)

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

表2. EasySep™小鼠 CD25 调节性T细胞正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		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 0.5 - 1.5 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	在样本中加入FcR阻断剂。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	在样本中加入正选抗体混合物。 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10分钟	室温孵育10分钟
4	在样本中加入PE分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	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。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> · 若样本 < 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15分钟	室温孵育15分钟
8	小心地吸取（切勿倾倒）上清液。	弃去上清液	弃去上清液
9	重复以上步骤。	重复两次步骤7和8 (总共进行3次15分钟的分选)	重复两次步骤7和8 (总共进行3次15分钟的分选)
10	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°C)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (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。

表3. RoboSep™小鼠 CD25 调节性T细胞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 1 - 8 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	在样本中加入FcR阻断剂。	50 μL/mL 样本	
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	
3	选择实验程序。	小鼠CD25调节性T细胞正选 18782	
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 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。请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

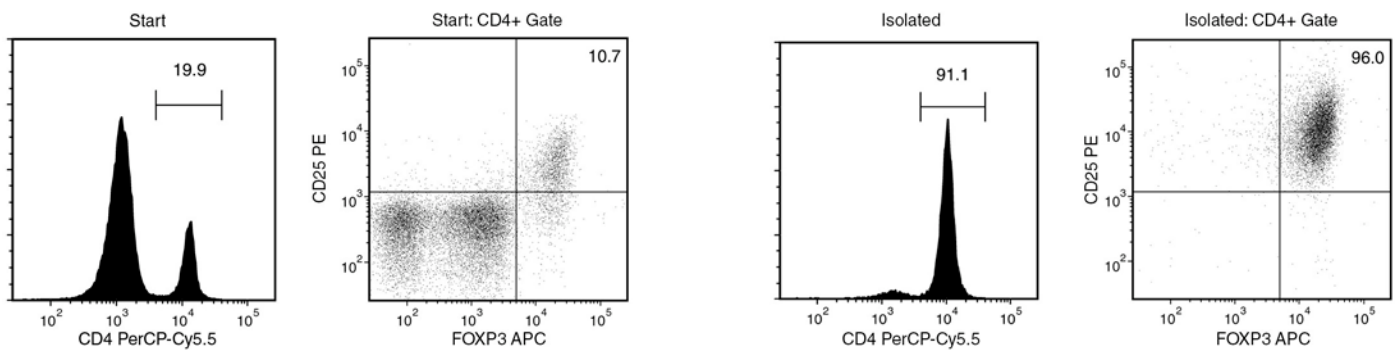
纯度评估

要通过流式细胞术评估调节性T细胞 (CD4+CD25+FOXP3+) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD4抗体，克隆RM4-5 (产品号 #60017)，以及
- 抗小鼠FOXP3抗体

注：CD25+细胞已进行PE标记。

实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的细胞中CD25调节性T细胞含量 (CD4+CD25+FOXP3+) 通常为80 - 93%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为2.1%和87.5%。

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、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。