

EasySep™小鼠记忆 CD4+ T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19767

产品号 #19767RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035830 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选从小鼠脾细胞中分离出无磁珠标记和高纯度的记忆CD4+ T细胞（CD4+^{CD62Lhigh} CD44^{high/int} 中央记忆和CD4+CD62L-CD44^{high/int} 效应记忆）。当使用其他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、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达96%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非记忆CD4+ T细胞。非目的细胞用生物素化抗体以及链霉亲和素包被的磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入至一个新的试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养以及基于细胞的实验。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物	19767C	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的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠	50001	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠悬浮液。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18730	1 x 0.2 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

在含有2%胎牛血清（FBS）的PBS或Hanks平衡盐溶液（HBSS）中机械解离脾脏。使用70 μm细胞滤筛（如产品号 #27216）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）或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。HBSS，调整配方（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37250）可用于代替PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺、Mg⁺⁺和生物素。

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™ 小鼠记忆CD4+ T细胞分选试剂盒操作流程

		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 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入小鼠FcR阻断剂。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
3	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
4	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15分钟	室温孵育15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。	125 µL/mL 样本	125 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
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	<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*，倾倒富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的14 mL流式管	<ul style="list-style-type: none"> 对于 < 4 mL的起始样本，使用新的14 mL流式管 对于 ≥ 4 mL的起始样本，使用新的50 mL锥形管
9	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸5 - 6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
10	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
11	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒富集的细胞悬液。	与步骤8中第一次倒出的细胞悬液合并， 分选后的细胞可立即用于下游应用	与步骤8中第一次倒出的细胞悬液合并， 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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™ 小鼠记忆CD4+ T细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 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 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入小鼠FcR阻断剂。	20 µL/mL 样本	20 µL/mL 样本
3	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
4	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15分钟	室温孵育15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。	125 µL/mL 样本	125 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
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	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的14 mL流式管	· 对于< 4 mL的起始样本，使用新的14 mL流式管 · 对于≥ 4 mL的起始样本，使用新的50 mL锥形管
9	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸5 - 6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
10	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
11	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管	与步骤8中第一次得到的细胞悬液合并， 分选后的细胞可立即用于下游应用	与步骤8中第一次得到的细胞悬液合并， 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（例如，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™ 小鼠记忆CD4+ T细胞分选试剂盒操作流程

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 - 6.5 mL	
2	在样本中加入小鼠FcR阻断剂。	20 μL/mL 样本	
3	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
4	选择实验程序。	小鼠记忆CD4+ T细胞分选 19767	
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
6	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	
7	运行完成后，卸载转盘。	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记忆CD4+ T细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

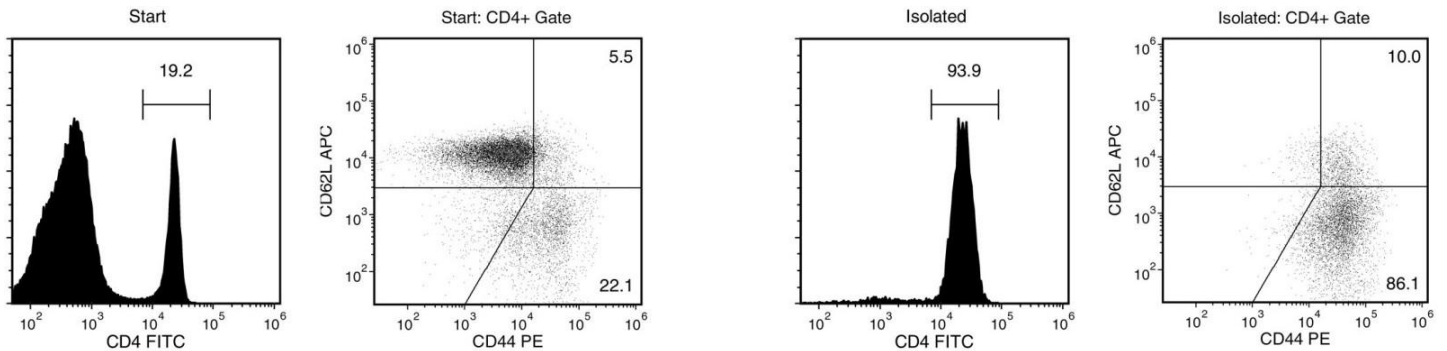
- 抗小鼠CD4抗体，克隆RM4-5 (产品号 #60017)，以及
- 抗小鼠CD44抗体，克隆IM7 (产品号 #60068)，以及
- 抗小鼠CD62L (L-Selectin) 抗体，克隆MEL-14 (产品号 #60109)

小鼠中央记忆CD4+ T细胞的表型为CD4+CD62L^{high} CD44^{high/int}，效应记忆CD4+ T细胞的表型为CD4+CD62L-CD44^{high/int}。

孵育温度

实验操作可在2 - 8°C下进行，不会影响试剂盒的性能。

实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的记忆CD4+ T细胞含量 (CD4+CD62L^{high}CD44^{high/int}中央记忆和CD4+CD62L-CD44^{high/int} 效应记忆) 通常为78 - 96%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为5.3%和90.2%。

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。