

EasySep™小鼠 Pan-Naïve T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19848

产品号 #19848RF RoboSep™

负选

文档号 #10000035834 | 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且高纯度的pan-naïve T细胞 (CD3+CD44^{low} CD62L^{high})。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97%
- 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naïve 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、培养或基于细胞的实验。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠T细胞分选抗体混合物	19851C.1	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™小鼠记忆T细胞去除抗体混合物	18766C	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	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠悬浮液。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18720	1 x 0.1 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。改良HBSS（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Pan-Naïve T细胞分选试剂盒操作流程

		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 0.1 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	10 µL/mL 样本
3	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)
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7.5分钟	室温孵育7.5分钟
5	在样本中加入去除抗体混合物。 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
6	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
7	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本	75 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
8	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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入富集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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™ 小鼠Pan-Naïve T细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™磁极		
步骤	说明	 EasyPlate™ (产品号 #18102)	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 0.05 - 0.2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.2 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.2 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	10 µL/mL 样本	10 µL/mL 样本
3	将样本添加到所需的试管中(若使用EasyPlate™ EasySep™磁极，将样本加到96孔板中)。	圆底，非TC处理的96孔板 (如: 产品号 #38018)	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)
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	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育7.5分钟	室温孵育7.5分钟	室温孵育7.5分钟
5	在样本中加入去除抗体混合物。 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
6	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
7	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本	75 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	室温孵育2.5分钟
8	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0.25 mL	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
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
9	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管或孔板。	分选后的细胞可立即用于下游应用	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
10	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2.5分钟	室温孵育2.5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。	---	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（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Pan-Naïve 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 - 8 mL 注：若起始样本少于1 x 10 ⁸ 个细胞，请使用1 mL缓冲液重悬细胞。
2	在样本中加入FcR阻断剂。	10 μL/mL 样本
3	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)
4	选择实验程序。	小鼠Pan-Naïve T细胞分选 19848 (19851/18766)
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

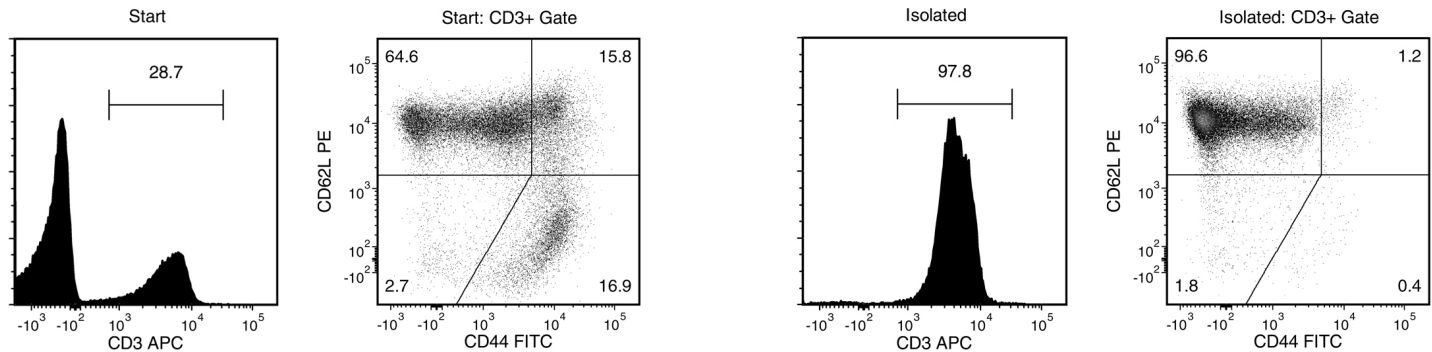
纯度评估

要通过流式细胞术评估pan-naïve T细胞 (CD3+CD44^{-low}CD62L^{high}) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD3e抗体，克隆145-2C11 (产品号 #60015)，以及
- 抗小鼠CD44抗体，克隆5035-41.1D，以及
- 抗小鼠CD62L (L-Selectin) 抗体，克隆MEL-14 (产品号 #60109)

抗小鼠CD44抗体，克隆5035-41.1D仅识别Ly-24.2亚型，该亚型在C57BL/6、C57BL/10、C57L、C58A、AKR、129、SJL、NZB、C3H、CE 和CBA/H小鼠品系中表达。

实验数据



起始样本为未感染小鼠的脾细胞，分选后的pan-naïve T细胞含量 (CD3+CD44^{-low}CD62L^{high}) 通常为90 - 97%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为18.5%和94.5%。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyPlates、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。