

EasySep™大鼠 CD4+ T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19642
#19642RF RoboSep™

负选

文档号 #10000035841 | 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大鼠脾脏细胞、淋巴结或全血样本中分离未被磁珠标记且高纯度的CD4+ T细胞。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、快速
- 纯度高达98%
- 无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

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CD4+ T细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，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、细胞培养或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™大鼠CD4+ T细胞分选抗体混合物	19642C	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™ 50102磁珠	50102	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。

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

脾脏或淋巴结

在推荐缓冲液中机械解离脾脏或者淋巴结。使用预先润湿的70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。关闭离心机刹车，以120 x g离心10分钟。去除上清液，并将细胞以 5×10^7 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

如仍然存在细胞聚团，使用预先润湿的70 μm尼龙滤筛再次过滤细胞悬液，然后关闭离心机刹车，以120 x g再离心10分钟。去除上清液，并将细胞以 5×10^7 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

在开始细胞分选之前，细胞悬液应保存在2 - 8°C。

全血

通过将全血在密度梯度离心液（例如Lymphoprep™，产品号 #18061）上进行离心，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™ IVD*（产品号 #85450/85415）或者SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。如需去除血小板，使用推荐缓冲液重悬PBMC，并关闭离心机刹车，以120 x g离心10分钟。小心地弃去上清。

制备完成后，将细胞以 5×10^7 有核细胞/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）。

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。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++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™大鼠 CD4+ 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。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 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。	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™磁珠加到样本中混匀。	25 µL/mL 样本	25 µL/mL 样本
	无需孵育。	不进行孵育，立即进行下一步骤	不进行孵育，立即进行下一步骤
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5 mL 若样本 > 2 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*，倾倒富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的5 mL试管， 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的14 mL流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用
可选: 额外分选步骤 注意: 可以提高纯度，但可能会降低细胞回收率（具体请查看注意事项和提示）。		---	---
7	从磁极中取出试管，然后将第6步中的新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育3分钟	室温孵育3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。	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™大鼠 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)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 试管	14 mL 试管	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 5 - 40 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) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	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	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育 (如有需要)。	不进行孵育, 立即进行下一步骤	不进行孵育, 立即进行下一步骤	室温孵育5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	· 若样本 ≤ 2 mL, 定容至5 mL · 若样本 > 2 mL, 定容至10 mL	· 若样本 ≤ 10 mL, 定容至25 mL · 若样本 > 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
6	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5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
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	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。	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	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™大鼠 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。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	大鼠CD4+ T细胞分选 19642	
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 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。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

大鼠品系

该试剂盒经验证可用于Sprague Dawley和Wistar大鼠品系，预计也可用于其他品系。

可选: 额外分选步骤

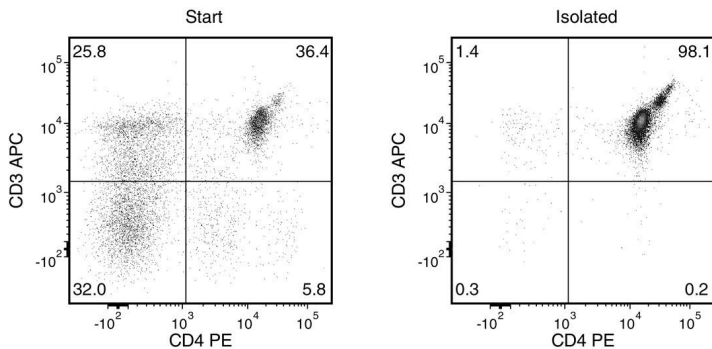
经过第二次分选后，纯度平均可提高 10%，但回收率可能会降低 5 - 15%。

纯度评估

要通过流式细胞术评估CD4+ T细胞的纯度，请使用以下荧光偶联的流式抗体:

- 抗大鼠CD3抗体，以及
- 抗大鼠CD4抗体

实验数据



起始样本为大鼠脾脏细胞，分选后细胞中T细胞 (CD3+CD4+) 的含量通常为97.8 ± 0.8% (平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™磁极并进行额外分选步骤)。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为36.4%和98.1%。

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、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。