

# EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II

For processing 1 x 10<sup>9</sup> cells

Catalog #17853

Positive Selection

Document #10000011311 | Version 00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

[INFO@STEMCELL.COM](mailto:INFO@STEMCELL.COM) • [TECHSUPPORT@STEMCELL.COM](mailto:TECHSUPPORT@STEMCELL.COM)

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## ENGLISH

### Description

Isolate highly purified CD8+ cells from fresh or previously frozen human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) or washed leukapheresis samples in as little as 15 minutes by immunomagnetic positive selection.

- Fast and easy-to-use
- Up to 99% purity
- No columns required

This kit targets CD8+ cells for positive selection with antibodies recognizing the CD8 surface marker. Desired cells are labeled with antibodies and magnetic particles, and separated without columns using an EasySep™ magnet. Unwanted cells are simply poured off, while desired cells remain in the tube. Isolated cells are immediately available for downstream applications such as flow cytometry, culture, or DNA/RNA extraction.

### Component Descriptions

COMPONENT NAME	COMPONENT #	QUANTITY	STORAGE	SHELF LIFE	FORMAT
EasySep™ Human CD8 Positive Selection Cocktail II	17853C	1 x 1 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A combination of monoclonal antibodies in PBS. Includes an Fc receptor blocking antibody.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	1 x 1 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A suspension of magnetic particles in water.

PBS - phosphate-buffered saline

Components may be shipped at room temperature (15 - 25°C) but should be stored as indicated above.

### Sample Preparation

For available fresh and frozen samples, see [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### PERIPHERAL BLOOD

Prepare a PBMC suspension from whole blood by centrifugation over a density gradient medium (e.g. Lymphoprep™, Catalog #07801). For more rapid PBMC preparation, use the SepMate™ RUO (Catalog #86450/86415) or SepMate™ IVD\* (Catalog #85450/85415) cell isolation tube.

If using previously frozen PBMCs, incubate the cells with DNase I Solution (Catalog #07900) at a concentration of 100 µg/mL at room temperature (15 - 25°C) for at least 15 minutes prior to labeling and separation. Filter aggregated suspensions through a 37 µm cell strainer (Catalog #27250) for optimal results.

After preparation, resuspend cells at 1 x 10<sup>8</sup> cells/mL in recommended medium.

\* SepMate™ IVD is only available in select regions where it is registered as an In Vitro Diagnostic (IVD) device for the isolation of mononuclear cells (MNCs) from whole blood or bone marrow by density gradient centrifugation. In all other regions SepMate™ is available for research use only (RUO).

#### LEUKAPHERESIS

Wash the peripheral blood leukapheresis sample by adding an equivalent volume of recommended medium or PBS containing 2% fetal bovine serum (FBS). Centrifuge at 500 x g for 10 minutes at room temperature (15 - 25°C). If red blood cell (RBC) lysis is necessary, lyse with Ammonium Chloride Solution (Catalog #07800). If platelet removal is necessary, centrifuge at 120 x g for 10 minutes with the brake off. Remove the supernatant and resuspend the cells at 1 x 10<sup>8</sup> cells/mL in recommended medium.



### Recommended Medium

EasySep™ Buffer (Catalog #20144), RoboSep™ Buffer (Catalog #20104), or PBS containing 2% FBS and 1 mM EDTA. Medium should be free of Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>.

## Directions for Use – Manual EasySep™ Protocols

See page 1 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Tables 1 and 2 for detailed instructions regarding the EasySep™ procedure for each magnet.




**Table 1. EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II Protocol**

		EASYSEP™ MAGNETS	
STEP	INSTRUCTIONS	 EasySep™ (Catalog #18000)	 "The Big Easy" (Catalog #18001)
1	Prepare sample at the indicated cell concentration within the volume range.	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.1 - 2.5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.25 - 8.5 mL
	Add sample to required tube.	5 mL (12 x 75 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38007)	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)
2	Add Selection Cocktail to sample.	100 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes
3	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds	30 seconds
4	Add RapidSpheres™ to sample.	50 µL/mL of sample	50 µL/mL of sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes
5	Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	Top up to 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for samples &lt; 1 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples ≥ 1 mL</li> </ul>
	Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes
6	Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube,* pouring off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells.	Discard supernatant	Discard supernatant
7	Repeat steps as indicated.	Steps 5 and 6, two more times (total of 3 x 3-minute separations)	Steps 5 and 6, two more times (total of 3 x 3-minute separations)
8	Resuspend cells in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use	Isolated cells are ready for use

RT - room temperature (15 - 25°C)

\* Leave the magnet and tube inverted for 2 - 3 seconds, then return upright. Do not shake or blot off any drops that may remain hanging from the mouth of the tube.

Table 2. EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II Protocol

STEP	INSTRUCTIONS	EASYSEP™ MAGNETS			
		 <b>EasyPlate™ (Catalog #18102)</b>	 <b>EasyEights™ (Catalog #18103)</b>		 <b>Easy 50 (Catalog #18002)</b>
			5 mL tube	14 mL tube	
1	Prepare sample at the indicated cell concentration within the volume range.	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.05 - 0.2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.1 - 2.5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.25 - 8.5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 5 - 40 mL
	Add sample to required tube (or plate if using the EasyPlate™ EasySep™ Magnet).	Round-bottom, non-tissue culture-treated 96-well plate (e.g. Catalog #38018)	5 mL (12 x 75 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38007)	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)	50 mL (30 x 115 mm) conical tube (e.g. Catalog #38010)
2	Add Selection Cocktail to sample.	100 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes
3	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds	30 seconds	30 seconds	30 seconds
4	Add RapidSpheres™ to sample.	50 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample	100 µL/mL of sample	50 µL/mL of sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes	RT for 3 minutes
5	Add recommended medium to top up sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	Top up to 0.25 mL	Top up to 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for samples &lt; 1 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples ≥ 1 mL</li> </ul>	Top up to: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 mL for samples ≤ 5 mL</li> <li>• 20 mL for samples &gt; 5 - 10 mL</li> <li>• 30 mL for samples &gt; 10 - 15 mL</li> <li>• 40 mL for samples &gt; 15 - 20 mL</li> <li>• 50 mL for samples &gt; 20 - 40 mL</li> </ul>
	Place the tube or plate (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 5 minutes	RT for 10 minutes	RT for 10 minutes	RT for 10 minutes
6	Carefully pipette** (do not pour) off the supernatant. Remove the tube or plate, containing the isolated cells, from the magnet.	Discard supernatant	Discard supernatant	Discard supernatant	Discard supernatant
7	Add recommended medium to top up sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	Top up to 0.25 mL	Top up to 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for samples &lt; 1 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples ≥ 1 mL</li> </ul>	Top up to: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 mL for samples ≤ 5 mL</li> <li>• 20 mL for samples &gt; 5 - 10 mL</li> <li>• 30 mL for samples &gt; 10 - 15 mL</li> <li>• 40 mL for samples &gt; 15 - 20 mL</li> <li>• 50 mL for samples &gt; 20 - 40 mL</li> </ul>
	Place the tube or plate (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 5 minutes	RT for 5 minutes	RT for 5 minutes	RT for 5 minutes
8	Carefully pipette** (do not pour) off the supernatant. Remove the tube or plate, containing the isolated cells, from the magnet.	Discard supernatant	Discard supernatant	Discard supernatant	Discard supernatant
9	Repeat steps as indicated.	Steps 7 and 8 (total of 3 x 5-minute separations)	Steps 7 and 8 (total of 1 x 10-minute and 2 x 5-minute separations)	Steps 7 and 8 (total of 1 x 10-minute and 2 x 5-minute separations)	Steps 7 and 8 (total of 1 x 10-minute and 2 x 5-minute separations)
10	Resuspend cells in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use	Isolated cells are ready for use	Isolated cells are ready for use	Isolated cells are ready for use


RT - room temperature (15 - 25°C)

\*\* Collect the entire supernatant, all at once, into a single pipette (e.g. for EasyEights™ 5 mL tube, use a 2 mL serological pipette [Catalog #38002]; for EasyEights™ 14 mL tube, use a 10 mL serological pipette [Catalog #38004]).

## Directions for Use – Fully Automated RoboSep™ Protocol

See page 1 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Table 3 for detailed instructions regarding the RoboSep™ procedure.

**Table 3. RoboSep™ Human CD8 Positive Selection Kit II Protocol**

STEP	INSTRUCTIONS	RoboSep™ (Catalog #21000)	
1	Prepare sample at the indicated cell concentration within the volume range.	1 x 10 <sup>8</sup> cells/mL 0.25 - 8 mL	
	Add sample to required tube.	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)	
2	Select protocol.	Human CD8 Positive Selection II 17853	
3	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds	
4	Load the carousel.	Follow on-screen prompts	
	Start the protocol.	Press the green "Run" button	
5	Unload the carousel when the run is complete. Remove the tube containing the isolated cells and resuspend in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use	

## Notes and Tips

### ASSESSING PURITY

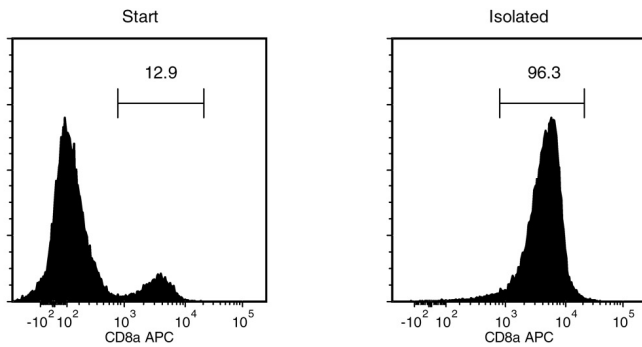
For purity assessment of CD8+ cells by flow cytometry, use one of the following fluorochrome-conjugated antibody clones:

- Anti-Human CD8a Antibody, Clone RPA-T8 (Catalog #60022), or
- Anti-Human CD8a Antibody, Clone SK1 (Catalog #60125; partially blocked), or
- Anti-human CD8 antibody, clone HIT8a, or clone B9.11, or
- Anti-human CD8 antibody, clone LT8 (partially blocked)

One of the following methods can also be used:

- Use an alternative marker such as fluorochrome-conjugated Anti-Human CD3 Antibody, Clone UCHT1 (Catalog #60011).
- Use a fluorochrome-conjugated secondary antibody, such as Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, Polyclonal (Catalog #60138).

## Data



Starting with a single-cell suspension of human PBMCs, the CD8+ cell content of the isolated fraction is typically 96.5 ± 2.4% (mean ± SD using "The Big Easy" EasySep™ Magnet). In the above example, the purities of the start and final isolated fractions are 12.9% and 96.3%, respectively.

PRODUCTS ARE FOR RESEARCH USE ONLY AND NOT INTENDED FOR HUMAN OR ANIMAL DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USES UNLESS OTHERWISE STATED. FOR ADDITIONAL INFORMATION ON QUALITY AT STEMCELL, REFER TO WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasyPlate, EasySep, RapidSpheres, RoboSep, and SepMate are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep is a trademark of Alere Technologies. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.

# EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713  
 INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM  
 FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Para procesar 1 x 10<sup>9</sup> células

No. catálogo #17853

Selección positiva

No. de document #1000011311 | Version 00

## ESPAÑOL

### Descripción

Aislamiento de células CD8+ altamente purificadas a partir de células mononucleares de sangre periférica humana de muestras frescas, o previamente congeladas (*peripheral blood mononuclear cells*, o PBMC en inglés), o muestras lavadas de leucoféresis, en tan sólo 15 minutos mediante selección positiva inmunomagnética.

- Rápido y fácil de usar
- Hasta un 99 % de pureza
- No se requieren columnas

Este kit se centra en el aislamiento de linfocitos que son CD8+ T por selección positiva con anticuerpos, que reconocen marcadores de superficie característicos para este subtipo celular. Las células deseadas se marcan con anticuerpos y partículas magnéticas y son separadas, sin columnas, usando un imán EasySep™. Las células no deseadas son simplemente desechadas y las células de interés quedan en el tubo. Las células aisladas estarán inmediatamente disponibles para aplicaciones subsiguientes como citometría de flujo, cultivos o extracción de ADN/ARN.

### Descripción de Componentes

NOMBRE DEL COMPONENTE	COMPONENTE NO.	CANTIDAD	ALMACENAMIENTO	VIDA ÚTIL	FORMATO
EasySep™ Human CD8 Positive Selection Cocktail II	17853C	1 x 1 mL	Almacenar entre 2 °C a 8 °C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una combinación de anticuerpos monoclonal en PBS. Incluye un anticuerpo bloqueador de receptor Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	1 x 1 mL	Almacenar entre 2 °C a 8 °C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una suspensión de partículas magnéticas en agua.

PBS - Tampón fosfato salino

Los componentes pueden transportarse a temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C), pero deben almacenarse según se indica anteriormente.

### Preparación de la Muestra

Para muestras frescas y congeladas, consulte [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### SANGRE PERIFÉRICA

Prepare una suspensión de PBMCs, a partir de sangre total, mediante centrifugación, en un medio de gradiente de densidad (p. ej., Lymphoprep™, n° de catálogo 07801). Para una preparación PBMCs más rápida, use tubo de aislamiento de células SepMate™ RUO (n° de catálogo 86450/86415) o SepMate™ IVD\* (n° de catálogo 85450/85415).

Si se usan PBMCs previamente congeladas, incube las células con solución DNase I (n° de catálogo 07900), a una concentración de 100 µg/mL a temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C), durante al menos 15 minutos antes del marcaje y la separación. Filtre las suspensión celular a través de un filtro de células de 37 µm (n° de catálogo 27250) para obtener resultados óptimos.

Después de la preparación, vuelva a resuspender las células a 1 x 10<sup>8</sup> células/mL en el medio recomendado.

\* SepMate™ IVD solo está disponible en regiones específicas, donde está registrada como un dispositivo de diagnóstico in vitro (IVD, siglas en inglés) para el aislamiento de células mononucleares (MNCs), a partir de sangre total o médula ósea, mediante centrifugación de gradiente de densidad. En el resto de las regiones, SepMate™ está disponible solo para uso en investigaciones (RUO, siglas en inglés).

#### LEUCOFÉRESIS

Lave la muestra de leucoféresis de sangre periférica añadiendo un volumen equivalente del medio recomendado, o PBS con un 2 % de suero fetal bovino (FBS). Centrifugue a 500 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C). Si es necesario realizar una lisis de glóbulos rojos (RBC), lisar con una solución de cloruro de amonio (n° de catálogo 07800). Si es necesaria la eliminación de plaquetas, centrifugue a 120 x g durante 10 minutos sin freno. Retire el sobrenadante y vuelva a resuspender las células a 1 x 10<sup>8</sup> células/mL en el medio recomendado.



### Medio Recomendado

Tampón EasySep™ (n° de catálogo 20144), tampón RoboSep™ (n° de catálogo 20104), o PBS con un contenido de 2 % FBS y EDTA 1 mM. El medio debe estar libre de Ca++ y Mg++.

## Instrucciones de Uso – Protocolos Manuales EasySep™

Consultar la página 1 para la preparación de muestra y el medio recomendado. Remítase a las tablas 1 y 2, para instrucciones detalladas respecto de procedimiento EasySep™ para cada imán.




Tabla 1. Protocolo de EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II

		IMANES EASYSEP™	
PASO	INSTRUCCIONES	 EasySep™ (n° de catálogo 18000)	 “The Big Easy” (n° de catálogo 18001)
1	Prepare la muestra a la concentración celular indicada dentro del rango de volumen.	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,1 - 2,5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,25 - 8,5 mL
	Añada la muestra al tubo requerido.	5 mL (12 mm x 75 mm) tubo de poliestireno de fondo redondo (p. ej., n° de catálogo 38007)	14 mL (17 mm x 95 mm) tubo de poliestireno de fondo redondo (p. ej., n° de catálogo 38008)
2	Añada el cóctel de selección a la muestra.	100 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos
3	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben estar uniformemente dispersas.	30 segundos	30 segundos
4	Añada RapidSpheres™ a la muestra.	50 µL/mL de muestra	50 µL/mL de muestra
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos
5	Añada el medio recomendado hasta alcanzar el volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando arriba y abajo 2 ó 3 veces.	Resuspenda hasta 2,5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resuspenda hasta 5 mL para muestras &lt; 1 mL</li> <li>Resuspenda hasta 10 mL para muestras ≥ 1 mL</li> </ul>
	Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos
6	Recoja el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo*, desechando el sobrenadante. Retire el tubo del imán, este tubo contiene las células aisladas.	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante
7	Repita los pasos según se indican.	Los pasos 5 y 6, dos veces más (total de 3 separaciones de 3 minutos)	Los pasos 5 y 6, dos veces más (total de 3 separaciones de 3 minutos)
8	Vuelva a resuspender las células en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.	Las células aisladas están listas para usarse	Las células aisladas están listas para usarse

TA - temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C)

\* Deje el imán y el tubo invertidos de 2 a 3 segundos, luego vuelva a ponerlo de pie. No sacuda ni seque las gotas que puedan quedar colgando de la boca del tubo.

Tabla 2. Protocolo de EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II

PASO	INSTRUCCIONES	IMANES EASYSEP™			
		 <b>EasyPlate™</b> (n° de catálogo 18102)	 <b>EasyEights™</b> (n° de catálogo 18103)		 <b>Easy 50</b> (n° de catálogo 18002)
			Tubo de 5 mL	Tubo de 14 mL	
1	Prepare la muestra a la concentración celular indicada dentro del rango de volumen.	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,05 - 0,2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,1 - 2,5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,25 - 8,5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 5 - 40 mL
	Añada la muestra al tubo requerido (o a la placa si usa el imán EasyPlate™ EasySep™).	Placa de 96 pocillos de fondo redondo, tratada para cultivo sin tejido (p. ej., n° de catálogo 38018)	5 mL (12 mm x 75 mm) tubo de poliestireno de fondo redondo de poliestireno (p. ej., n° de catálogo 38007)	14 mL (17 mm x 95 mm) tubo de poliestireno de fondo redondo (p. ej., n° de catálogo 38008)	50 mL (30 mm x 115 mm) tubo cónico (p. ej., n° de catálogo 38010)
2	Añada el cóctel de selección a la muestra.	100 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos
3	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben estar uniformemente dispersas.	30 segundos	30 segundos	30 segundos	30 segundos
4	Añada RapidSpheres™ a la muestra.	50 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra	100 µL/mL de muestra	50 µL/mL de muestra
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos	TA durante 3 minutos
5	Añada el medio recomendado para resuspender la muestra al volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando arriba y abajo 2 ó 3 veces.	Resuspensa hasta 0,25 mL	Resuspensa hasta 2,5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resuspensa hasta 5 mL para muestras &lt; 1 mL</li> <li>Resuspensa hasta 10 mL para muestras ≥ 1 mL</li> </ul>	Resuspensa hasta: <ul style="list-style-type: none"> <li>10 mL para muestras ≤ 5 mL</li> <li>20 mL para muestras &gt; 5 - 10 mL</li> <li>30 mL para muestras &gt; 10 - 15 mL</li> <li>40 mL para muestras &gt; 15 - 20 mL</li> <li>50 mL para muestras &gt; 20 - 40 mL</li> </ul>
	Coloque el tubo o placa (sin tapa) dentro del imán e incube.	TA durante 5 minutos	TA durante 10 minutos	TA durante 10 minutos	TA durante 10 minutos
6	Pipetee cuidadosamente** (no vierta) para desechar el sobrenadante. Retire del imán el tubo o placa que contiene las células aisladas.	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante
7	Añada el medio recomendado para resuspender la muestra al volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando arriba y abajo 2 ó 3 veces.	Resuspensa hasta 0,25 mL	Resuspensa hasta 2,5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resuspensa hasta 5 mL para muestras &lt; 1 mL</li> <li>Resuspensa hasta 10 mL para muestras ≥ 1 mL</li> </ul>	Resuspensa hasta: <ul style="list-style-type: none"> <li>10 mL para muestras ≤ 5 mL.</li> <li>20 mL para muestras &gt; 5 - 10 mL</li> <li>30 mL para muestras &gt; 10 - 15 mL</li> <li>40 mL para muestras &gt; 15 - 20 mL</li> <li>50 mL para muestras &gt; 20 - 40 mL</li> </ul>
	Coloque el tubo o placa (sin tapa) dentro del imán e incube.	TA durante 5 minutos	TA durante 5 minutos	TA-durante5 minutos	TA durante 5 minutos
8	Pipetee cuidadosamente** (no vierta) para desechar el sobrenadante. Retire del imán el tubo o placa que contiene las células aisladas.	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante	Deseche el sobrenadante
9	Repita los pasos según se indican.	Los pasos 7 y 8 (total de 3 separaciones de 5 minutos)	Los pasos 7 y 8 (total de 1 separación de 10 minutos y 2 de 5 minutos)	Los pasos 7 y 8 (total de 1 separación de 10 minutos y 2 de 5 minutos)	Los pasos 7 y 8 (total de 1 separación de 10 minutos y 2 de 5 minutos)
10	Vuelva a resuspender las células en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.	Las células aisladas están listas para usarse	Las células aisladas están listas para usarse	Las células aisladas están listas para usarse	Las células aisladas están listas para usarse


TA - temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C)

\*\* Recoja todo el sobrenadante de una vez en el interior de una sola pipeta (p. ej., para tubos EasyEights™ de 5 mL, use una pipeta serológica de 2 mL [n° de catálogo 38002]; para tubos EasyEights™ de 14 mL, use una pipeta serológica de 10 mL [n° de catálogo 38004]).

## Instrucciones de Uso – Protocolo Completamente Automatizado RoboSep™

Consultar la página 1 para la preparación de muestra y el medio recomendado. Remítase a la tabla 3, para instrucciones detalladas respecto de procedimiento RoboSep™.

**Tabla 3. Protocolo de EasySep™ Human CD8 Positive Selection Kit II**

PASO	INSTRUCCIONES	RoboSep™ (n° de catálogo 21000)	
1	Prepare la muestra a la concentración celular indicada dentro del rango de volumen.	1 x 10 <sup>8</sup> células/mL 0,25 - 8 mL	
	Añada la muestra al tubo requerido.	14 mL (17 mm x 95 mm) tubo de poliestireno de fondo redondo (p. ej., n° de catálogo 38008)	
2	Seleccione el protocolo.	Human CD8 Positive Selection II 17853	
3	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben estar uniformemente dispersas.	30 segundos	
4	Cargue el carrusel.	Siga los mensajes en pantalla	
	Inicie el protocolo.	Pulse el botón verde «Run»	
5	Descargue el carrusel cuando termine la ejecución. Retire el tubo que contiene las células aisladas y vuelva a suspenderlas en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.	Las células aisladas están listas para usarse	

## Notas y Consejos

### CÓMO EVALUAR LA PUREZA

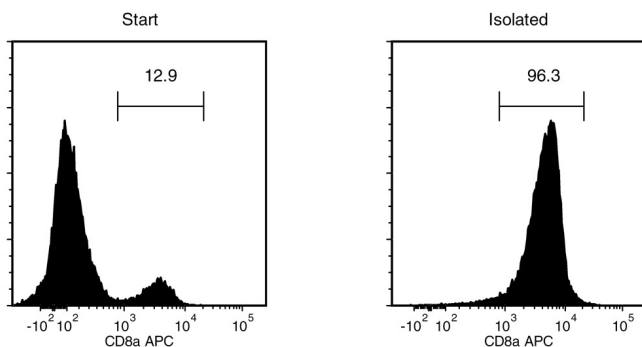
Para evaluar la pureza de las células CD8+ mediante citometría de flujo, emplee uno de los clones de anticuerpos conjugados con fluorocromo:

- Anti-Human CD8a Antibody, Clone RPA-T8 (n° de catálogo 60022), o
- Anti-Human CD8a Antibody, Clone SK1 (n° de catálogo 60125; parcialmente bloqueado), o
- Anti-human CD8 antibody, clone HIT8a, o clone B9.11, o
- Anti-human CD8 antibody, clone LT8 (parcialmente bloqueado)

Se puede emplear uno de los siguientes métodos:

- Usar un marcador alternativo como anticuerpo contra CD3 humana conjugado con fluorocromo, clon UCHT1 (n° de catálogo 60011).
- Usar un anticuerpo secundario conjugado con fluorocromo, como anticuerpo de cabra contra IgG de ratón (H+L), policlonal (n° de catálogo 60138).

## Datos



Comenzando con una suspensión monocelular de PBMC humanas, el contenido de células CD8+ de la fracción aislada es normalmente 96,5 ± 2,4% (± SD media usando el imán "The Big Easy" EasySep™). En el ejemplo anterior, las puridades de las fracciones aisladas inicial y final son 12,9% y 96,3%, respectivamente.

LOS PRODUCTOS SON SOLO PARA USO EN INVESTIGACIONES Y NO ESTÁN PREVISTOS PARA DIAGNÓSTICO HUMANO NI ANIMAL, NI USOS TERAPÉUTICOS. PARA OBTENER INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LA CALIDAD EN STEMCELL, CONSULTE [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2021 de STEMCELL Technologies Inc. Todos los derechos reservados incluyendo los gráficos e imágenes. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasyPlate, EasySep, RapidSpheres, RoboSep, y SepMate son marcas comerciales de STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep es una marca comercial de Alere Technologies. Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos titulares. Si bien STEMCELL ha hecho todos los esfuerzos razonables para garantizar que la información facilitada por STEMCELL y sus proveedores sea correcta, no ofrece garantías ni declaraciones cuanto a la exactitud de dicha información.