

# 人CD3<sup>+</sup>T细胞分选试剂盒

## 产品描述:

人CD3<sup>+</sup>T细胞分选试剂盒是通过阴性分选法从人外周血单个核细胞（PBMC）中分离出CD3<sup>+</sup>T细胞。原理是利用生物素（biotin）标记的单克隆抗体对非目标细胞（非CD3<sup>+</sup>T细胞）进行标记，然后通过链霉亲和素（streptavidin）标记的磁珠对非目标细胞进行清除，从而达到纯化人CD3<sup>+</sup>T细胞的目的。分选过程需要用到磁力架。

## 规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-701-100 规格 (For 1×10 <sup>9</sup> cells)	Cat.No.:RG11-701-50 规格 (For 5×10 <sup>8</sup> cells)
Biotin-Antibody Mix	200 μL	100 μL
Streptavidin-Beads	2 mL	1 mL

➤ **储存条件:** 2-8°C保存，不可冷冻，有效期见试管标签。

➤ **适用范围:** 本试剂盒适用于从新鲜分离的人 PBMC 或冻存的人 PBMC 中分选出CD3<sup>+</sup>T细胞。

## 操作流程:

**1. 制备人PBMC:** 利用 Ficoll 密度梯度离心法从人外周血中分离 PBMC，收集 PBMC，以 PBS 洗涤细胞，离心后将 PBMC 重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1×10<sup>8</sup> cells/mL。

**注意:** 分选buffer为含有2% FBS和2mM EDTA的PBS，缓冲液应该不含Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>，需预先通过0.22 μm滤膜过滤除菌。

**2. 抗体标记非目的细胞:** 将100 μL细胞悬液（1×10<sup>7</sup>个细胞）加入5 mL无菌流式管底部，加2 μL Biotin-Antibody Mix，轻轻吹打混匀，4°C孵育10分钟。

**注意:** 加入细胞悬液时将细胞加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入；流式管选用聚苯乙烯材质；根据所使用磁力架特点也可使用离心管进行细胞分选；说明书以1×10<sup>7</sup>个细胞量举例，如果分选更多细胞，则按比例调整用量：如5×10<sup>7</sup> cells需500 μL细胞悬液 + 10 μL抗体。

**3. 磁珠预处理:** 涡旋震荡重悬磁珠（Streptavidin-beads），吸取20 μL磁珠至1.5 mL离心管，加入1 mL分选buffer，10000 g离心1 min，弃上清。重复洗涤1次。清洗后用20 μL分选buffer进行重悬。

**注意:** buffer与磁珠最终是1:1等比例混匀，如清洗50 μL磁珠（Streptavidin-beads），则最终用50 μL buffer重悬。

**4. 磁珠孵育:** 加入20 μL预处理过的Streptavidin-Beads混悬液，轻轻混匀，4°C孵育10分钟。

**注意:** 说明书以1×10<sup>7</sup>个细胞量举例，如果分选更多细胞，则按比例增加Streptavidin-Beads用量。

**5. 磁力分离:** 孵育完成后，加入2.5 mL分选buffer，充分混匀，将流式管置于磁力架上静置5分钟。

**注意:** 补buffer时用移液器上下混合吹打5次混匀，避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀。

6. **收集细胞**：手持磁力架，将细胞悬液轻柔倒入无菌离心管中，此细胞悬液中即包含纯化的人CD3<sup>+</sup>T细胞。

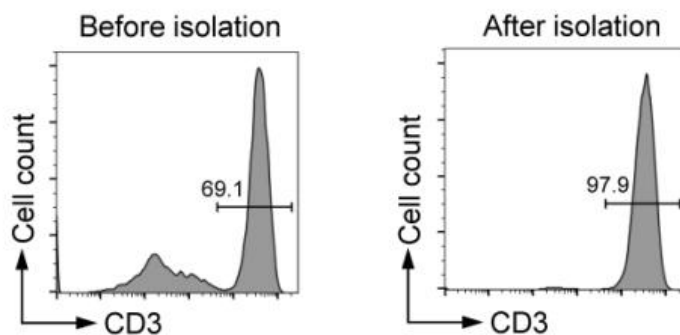
**注意**：倾倒过程中流式管不要脱离磁力架。

7. **洗涤与重悬**：将收集的细胞悬液离心，300 g离心5 min后，可根据实验需要洗涤细胞，之后将细胞重悬于所需缓冲液或培养基中，即可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

### ➤ 注意事项：

1. 磁珠和抗体混合液使用和保存过程中均应避免冷冻、高速离心等操作；
2. 建议选用低吸附移液器吸头和离心管，避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗；
3. 如果单次分选少于 $1 \times 10^7$  cells，则将细胞悬液体积补至100  $\mu$ L，加入2  $\mu$ L Biotin-Antibody Mix和20  $\mu$ L Streptavidin-Beads；
4. 本产品需与磁性分离器配套使用；
5. 本产品仅供研究使用。

### ➤ 分选效果：



从人 PBMC 中分选CD3<sup>+</sup>T 细胞，用 PE 标记的anti-human CD3 抗体（克隆号 OKT3）染色后进行流式细胞分析，分选前后的CD3<sup>+</sup>T 细胞纯度分别为 69.1%和 97.9%。