

人CD8⁺T细胞分选试剂盒

➤ 产品描述:

人CD8⁺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 CD8⁺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CD8⁺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CD8⁺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.:RG11-703-100 规格 (For 1×10 ⁹ cells)	Cat.No.:RG11-703-50 规格 (For 5×10 ⁸ 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CD8⁺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 1×10⁸ cells/mL。

注意: 分选buffer为含有2% FBS和2mM EDTA的PBS，缓冲液应该不含Ca²⁺和Mg²⁺，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（1×10⁷个细胞）加入一个无菌 1.5 mL 离心管底部，再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix，混匀后 4°C 孵育 15 min。加入1 mL（10倍体积）分选buffer，500 g离心5分钟，弃上清，用 100 μL缓冲液重悬细胞。

注意: 按比例调整用量：如5×10⁷ cells需500 μL细胞悬液 + 10 μL抗体，用5 mL分选buffer洗涤。可以使用 15 mL 或 50 mL 离心管进行操作。

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10 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1×10⁷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，将细胞和磁珠混合液转移至一个无菌5 mL流式管中，补加分选 buffer 至总体积为 2.5 mL，用移液器吹打5次混匀。将流式管置于磁力架上静置5分钟。

注意: 流式管选用聚苯乙烯材质。

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CD8⁺T细胞。

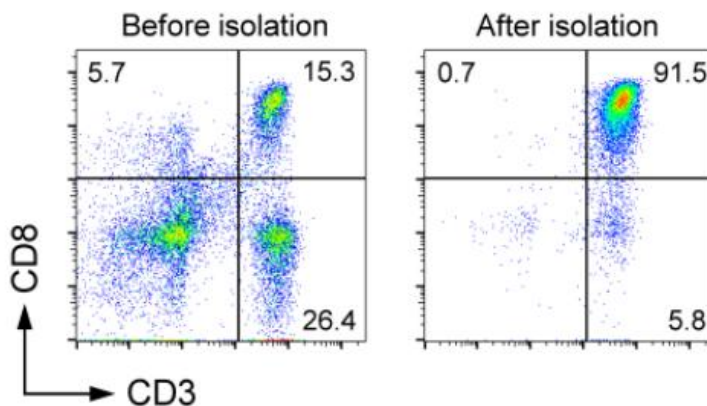
注意：倾倒过程中流式管不要脱离磁力架。

7. **二次纯化（可选*）**：将收集的细胞悬液离心，500 g离心5 min后，弃上清，用 100 μ L 分选 buffer 重悬细胞，重复步骤4-6，此操作可提高纯度2-4%。

➤ 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 1×10^7 cells，则将细胞悬液体积补至100 μ L，加入2 μ L Biotin-Antibody Mix和10 μ 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CD8⁺T 细胞，用 PE 标记的 anti-human CD8a 抗体（克隆号 RPA-T8）和 APC 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⁺CD8⁺T细胞纯度分别为 15.3%和 91.5%。