

# 人 CD8+ T 细胞磁珠分选试剂

Cat. No.: 51-01-0002

## 一、原理介绍

免疫细胞磁珠分选技术（magnetic-activated cell sorting, MACS），是一种集合了磁力学、免疫学、细胞生物学等原理于一体的高度特异性细胞分选技术，借助偶联于磁性微粒上抗体的高度特异性，识别并标记靶细胞的表面抗原，再通过外加磁场的作用，使结合了磁珠的靶细胞被吸附于磁场中，而未结合的细胞被除去，得到纯化的靶细胞，从而实现高效的分选和富集。

## 二、产品简介

人 CD8+ T 细胞富集分选试剂（阳性分选）根据人细胞表面 CD8 表达从新鲜或冷冻的外周血单个核细胞(PBMCs)、白细胞分离产物或单细胞悬液中分离 CD8+细胞。抗人 CD8 单克隆抗体表面用超顺磁纳米微珠进行标记，形成磁性纳米颗粒。开始分离，在细胞中添加纳米珠。预先偶联到纳米珠上的 CD8 抗体可以与细胞表面表达 CD8 的靶细胞结合。细胞/珠混合悬浮液被加载到分选柱上，当使用分离缓冲液冲洗 CD8 细胞时，纳米珠标记的 CD8+细胞被保留在柱内，并在清洗步骤中富集。去除磁场后，目标 CD8+细胞可以很容易地从柱中洗脱。

## 三、产品规格

| 货号          | 名称                | 规格  | 细胞量                                        |
|-------------|-------------------|-----|--------------------------------------------|
| 51-01-0002S | 人 CD8+ T 细胞磁珠分选试剂 | 1mL | for up to $5 \times 10^8$ total cells      |
| 51-01-0002L | 人 CD8+ T 细胞磁珠分选试剂 | 2mL | 1 mL for up to $1 \times 10^9$ total cells |

## 四、储存条件及有效期

- 保存于 2-8°C。不可冷冻储存。可稳定保存至标签上的有效期(EXP.)。
- 产品形式：生物可降解基质包被纳米颗粒与抗 CD8 抗体提供的磷酸盐缓冲盐水(PBS)，含有人血清白蛋白(HSA)，pH7.0-7.4

## 五、产品应用

从白细胞分离、PBMC 或细胞培养中阳性选择或去除 CD8+T 细胞。分离的 CD8+T 细胞可用于培养和扩增、流式细胞术、T 细胞功能检测等。

## 六、操作指南

### 1. 材料准备

1.1 分选缓冲液 (PBS 溶液, pH 7.2, 0.5%BSA and 2 mM EDTA)

1.2 缓冲液

1.3 分离柱

1.4 分选磁铁

### 2. 样本制备:

当使用抗凝外周血时, 外周血单个核细胞(PBMCs)应采用密度梯度离心法进行分离, 并使用分离缓冲液洗涤以去除干扰因子。

当使用冷冻的 PBMC 时, 复苏冷冻的 PBMC, 然后继续执行本方案。当发现死亡细胞相当多时, 应用密度梯度离心法去除死亡细胞, 或在培养基中培养细胞过夜, 然后继续执行本方案。

#### 相关辅助产品

| 货号         | 产品名        | 规格                     |
|------------|------------|------------------------|
| 91-01-0001 | 人淋巴细胞分离液   | 200mL/瓶                |
| 91-01-0002 | 快速单个核细胞分离管 | 15mL/支, 20 支/包, 10 包/箱 |
| 91-01-0003 | 快速单个核细胞分离管 | 50mL/支, 10 支/包, 10 包/箱 |

详细操作步骤请参考对应的产品说明书。

### 3. 磁性标记

3.1 将所需数量的细胞转移到一个新的试管中。

3.2 细胞计数。

3.3 单细胞悬液、300g、10min 离心, 弃上清。

3.4 在每  $10^7$  总细胞在 80 $\mu$ L 缓冲液中重悬单细胞悬液。

**注意: 需要考虑死体积, 如死体积已足 80 $\mu$ L 则不需要加缓冲液。**

3.5 每  $10^7$  总细胞加入 20 $\mu$ L CD8 磁性微球。

3.6 混匀单细胞悬液和磁珠, 在冰箱中孵育 30 分钟(2-8 $^{\circ}$ C)。

**注意: 如需要鉴定纯度, 可在这个步骤完成以后进行鉴定抗体孵育。**

3.7 洗涤, 每  $10^7$  细胞加入 1-2mL 缓冲液清洗细胞, 300g 离心 10 分钟。弃上清。

3.8 使用分选缓冲液, 重悬单细胞悬液在 500 $\mu$ L 体系。

#### 4. 分选柱准备

4.1 取一根未开发的分选柱至于对应配套的磁铁中。

4.2 取 1mL 分选缓冲液缓慢加入分选柱中，润湿分选柱内部，期间避免气泡产生和进入分选柱内部，直至分选柱最后一滴液体流出。

4.3 在分选柱下放防置新的试管，取操作步骤 3 准备的单细胞悬液，缓慢加入单细胞悬液于分选柱内，等待单细胞悬液最后一滴流出。

4.4 原操作步骤 4.3 单细胞悬液的试管加入 3mL 分选缓冲液，并充分混匀，然后加入分选柱内，直至最后一滴流出。

4.5 重复操作 4.4，三次每次 3mL。

4.6 最后加入 5mL 分选缓冲液于分选柱内，取出分选柱使用分选柱配套的活塞推出分选柱内目的细胞于新的试管里面。

4.7 根据下游应用对应处理。如需鉴定纯度需尽快完成。

#### 七、实验数据：

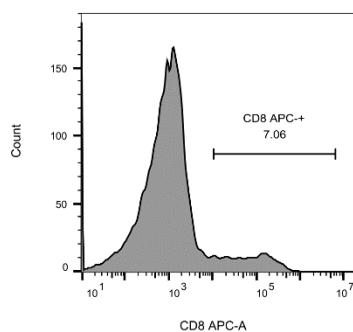


图 1: PMBCs before separation

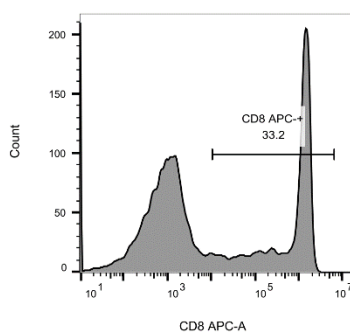


图 2: CD8+ T cell-depleted fraction

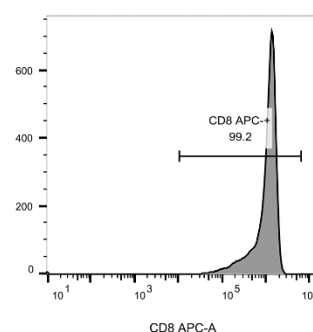


图 3: Isolated CD8+ T cells

#### 八、参考文献：

如果您使用了我们公司生产的人 CD8+ T 细胞磁珠分选试剂，请在发表文章中标注：

人 CD8+ T 细胞磁珠分选试剂( 51-01-0002 , Suzhou XinBio Co., Ltd. China )

(51-01-0002 , 苏州欣协生物科技有限公司，中国)