

人 CD3+ T 细胞分选试剂盒（阴选）（91-28-0013）

[产品简介]

本产品可以通过阴性分选法从人外周血单个核细胞（PBMC）中分离出 CD3+ 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+ 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，从而达到人外周血 CD3+ T 细胞分选的目的。分选过程需要用到磁力架。

[产品信息]

组分	规格 (For 5×10^8 cell)
生物素抗体混合物	100 μ L
链霉亲和素磁珠	1 mL

[储存条件及有效期]

2 - 8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[适用范围]

本试剂盒适用于从人 PBMC 中分选出 CD3+ T 细胞。

[步骤]

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 1×10^8 cells/mL。

注意：分选 buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或者含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS，需预先通过 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。

2. 将 100 μ L 细胞悬液 (1×10^7 个细胞) 加入无菌流式管底部，再加入 2 μ L 生物素抗体混合物，混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意：将细胞悬液直接加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架不同也可使用离心管进行细胞分选。如果分选更多细胞，则按比例增加生物素抗体混合物的用量。

3. 孵育完成后，在流式管中加入 20 μ L 清洗过的链霉亲和素磁珠，混匀后 4°C 孵育 10 min (**磁珠使用前需要用分选 buffer 进行清洗：**涡旋振荡彻底重悬磁珠，取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入分选 buffer 至总体积为 1 mL，10000 g，离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 buffer 重悬磁珠，10000 g，离心 1 min，弃上清。用与起初相同体积的分选 buffer 重悬磁珠。如取 20 μ L 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μ L 分选 buffer 进行重悬)。

注意：如果分选更多细胞，则按比例增加链霉亲和素磁珠用量。例如分选 5×10^7 个细胞，在 500 μ L 细胞悬液中加入 10 μ L 生物素抗体混合物和 100 μ L 链霉亲和素磁珠。如果分选少于 1×10^7 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μ L，加入 2 μ L 生物素抗体混合物和 20 μ L 链霉亲和素磁珠。

4. 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分选 buffer，用移液器吹打 5 次混匀（避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀）。

5. 将含有细胞的流式管置于磁力架上，静置 5 min。

6. 将细胞悬液轻柔倒入一个无菌离心管中（倾倒过程中流式管不要脱离磁力架），此细胞悬液中即包含纯化的人 CD3+ T 细胞。300 g，离心 5 min。弃上清，收集细胞。
7. 根据实验需要洗涤细胞后，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应避免冷冻；
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. 本产品需与磁力架配套使用；
4. 本产品仅供研究使用。