

TBD 人 CD3⁺ T 细胞分选试剂盒

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 10 ⁹ cell)	规格 (For 5 × 10 ⁸ cell)
Biotin-Antibody Mix	200 μL	100 μL
TBD-Streptavidin	2 mL	1 mL

储存条件及有效期

2-8°C 保存, 不可冷冻。

适用范围

本试剂盒适用于从人 PBMC 中分选出 CD3⁺ T 细胞。

操作流程示例

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 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 μm 滤膜过滤除菌。

2. 将 100 μL 细胞悬液 (1 × 10⁷ 个细胞) 加入无菌流式管底部, 再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix, 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 Biotin-Antibody Mix 的用量。

3. 孵育完成后, 在流式管中加入 20 μL 清洗过的 TBD-Streptavidin, 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 μL 磁珠进行清洗, 则清洗后用 20 μL 分选 buffer 进行重悬)。

注意: 如果分选更多细胞, 则按比例增加 TBD-Streptavidin 用量。例如分选 5 × 10⁷ 个细胞, 在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μL Biotin-Antibody Mix 和 100 μL TBD-Streptavidin。如果分选少于 1 × 10⁷ 个细胞则将细胞悬液体积补至 100 μL, 加入 2 μL Biotin-Antibody Mix 和 20 μL TBD-Streptavidin。

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)。

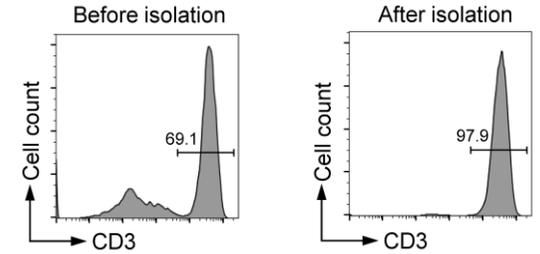
5. 将含有细胞的流式管置于磁力架上, 静置 5 min。

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。

分选效果

从人 PBMC 中分选 CD3⁺ 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⁺ T 细胞纯度分别为 69.1% 和 97.9%。



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。



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

