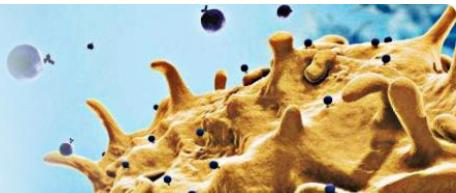




Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



## 人 CD3<sup>+</sup>细胞分选试剂盒

ImunoSep™ Human CD3<sup>+</sup> Cell Positive Selection Kit

货 号:	710305	50 次
	710310	100 次
	710320	200 次

储 存: 2-8°C。避免冷冻。

有 效 期: 详见试剂瓶。

注意事项: 为保证分选的细胞不被污染, 请在生物安全柜中执行所有细胞分选步骤。

## 产品介绍

人 CD3<sup>+</sup>细胞分选试剂盒用于阳性分选正常人外周血单个核细胞中的 CD3<sup>+</sup>细胞, 其利用生物素化抗体标记 CD3<sup>+</sup>细胞, 再用 Anti-Biotin 超顺磁纳米微珠结合被标记的 CD3<sup>+</sup>细胞; 当细胞悬液置于磁场中时, 被磁珠结合的 CD3<sup>+</sup>细胞滞留在磁场中, CD3<sup>+</sup>细胞游离在细胞悬液中游离, 从而将正常人外周血单个核细胞中的 CD3<sup>+</sup>细胞分选出来。

## 成 分

1. ImunoSep™ 人 CD3<sup>+</sup>细胞分选试剂 A: 2 μL/次。

2. ImunoSep™ 人 CD3<sup>+</sup>细胞分选试剂 B: 15 μL/次。

使用剂量: 在 100 μL 体系中, 分别使用分选试剂 A (2 μL/次) 和分选试剂 B (15 μL/次) 标记  $1 \times 10^7$  细胞。如果细胞数量不足  $1 \times 10^7$  细胞, 使用试剂量请按照一次分选所使用

的试剂量标记细胞, 进行细胞分选。

## 相关产品

Anti-Human CD3-FITC (#11-0038 eBioscience)

## 实验步骤

以下实验方法是用于阳性分选试剂盒分选目的细胞的一般实验步骤。在阳性细胞分选中, 用分选试剂 A 标记目的细胞, 再用分选试剂 B 结合被标记的细胞。当细胞悬液置于磁场中时, 被标记的目的细胞滞留在磁场中, 而非目的细胞悬浮在溶液中保持游离, 可通过倾倒去除。

## 需要另外准备的试剂和耗材

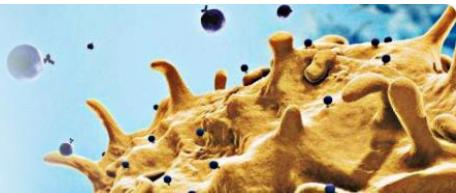
- 1) ImunoSep™ Buffer (500 mL) #604050。
- 2) 分选磁极 #602005。
- 3) 流式管 (12×75 mm, 5 mL) #352058。
- 4) 离心管 (15 mL)。

## 警 告

分选磁极可产生强磁场。远离心脏起搏器、信用卡、磁性 ID 卡、手表、电脑显示器和硬盘等电子设备, 以防损坏仪器设备。

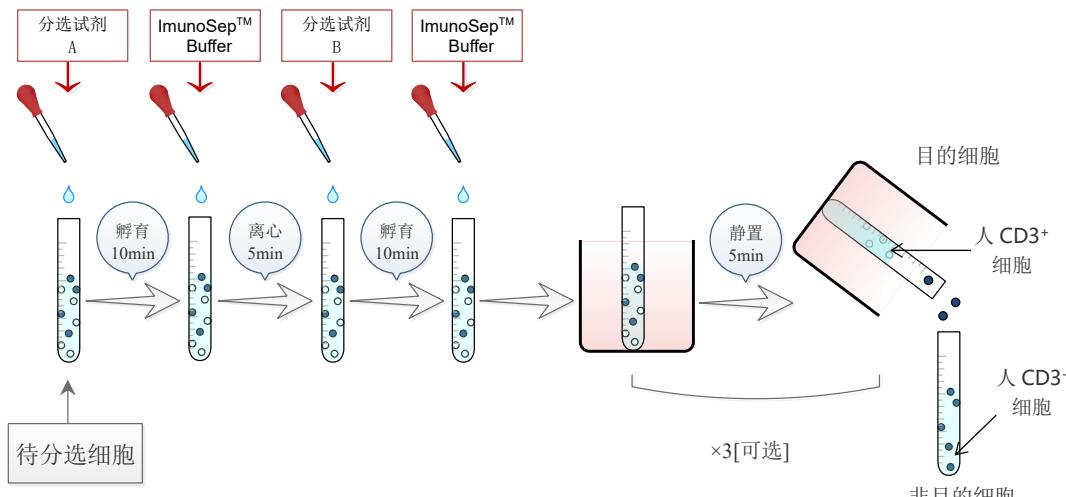
## A.细胞准备

1. 除非另有说明, 分选试剂盒优化用于分选正常人单细胞悬液中的目的细胞。
2. 有关正常人外周血单个核细胞的制备, 建议彻底清洗单个核细胞, 去除血小板, 以获得最佳的细胞分选效果。
3. 建议使用分选缓冲液 ImunoSep™ Buffer (含 EDTA)。



## B. 细胞分离

实验流程：



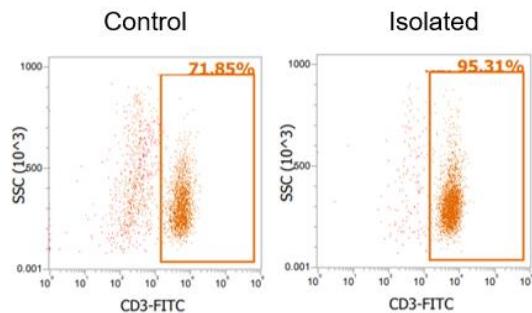
- 用适当体积的 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞，调整细胞浓度至  $1 \times 10^8$ /mL (每 100  $\mu$ L 细胞悬液中含  $1 \times 10^7$  细胞)，制备单细胞悬液。  
注意：细胞必须是单细胞悬液。如有必要，进行涡旋振荡或用移液管移除团块，然后再继续细胞分选。
- 在 12×75 mm, 5 mL 流式管中放置所需数量的细胞，但不超过  $2 \times 10^8$  细胞。
- 每 100  $\mu$ L 细胞添加 2  $\mu$ L 分选试剂 A。通过涡旋仪混匀或利用 1 mL Tip 吹打 5 次混匀。在室温下孵育 10 分钟。
- 加入 ImunoSep™ Buffer 至 4 mL，洗涤细胞，然后在室温下以 300×g 离心 5 分钟。
- 弃去上清液，用 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞至其初始体积。
- 每 100  $\mu$ L 细胞悬液添加 15  $\mu$ L 分选试剂 B，利用 1 mL Tip 吹打 5 次或涡旋仪震荡混匀。在室温下孵育 10 分钟。  
注意：分选试剂 B 在添加到细胞悬液前，必须用 1 mL Tip 混合均匀，以确保最佳性能。
- 添加 ImunoSep™ Buffer 至 2.5 mL。用 1 mL Tip 吹打 3 次混合均匀，请勿涡旋混匀。
- 将盛有细胞悬液的 5 mL 流式管插入磁极中，使流式管底部通过磁极底部孔道，直至接触到工作台面。在室温条件下静置 5 分钟。
- 保持流式管在磁极中，将磁极和流式管一同拿起，快速将上清液倾倒入 15 mL 无菌离心管中。流式管倒置时长不

可超过 2 秒，随即将其恢复到直立位置。

注意：请勿晃动或摇动磁极中倒置的流式管，以免降低分选细胞的纯度。

- 从磁极中取出含有结合 CD3<sup>+</sup> 细胞的流式管，再重复步骤 7 至 9，共洗涤 3 次。
- 从磁极中取出含有 CD3<sup>+</sup> 细胞的流式管，加入 1 mL ImunoSep™ Buffer。通过吸取 ImunoSep™ Buffer 来清洗管壁上的 CD3<sup>+</sup> 细胞。分选所得的人 CD3<sup>+</sup> 细胞可供下游实验使用。

## 分选细胞流式检测报告



人 CD3<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒分离正常人外周血单个核细胞中的 CD3<sup>+</sup> 细胞后，利用 Anti-Human CD3-FITC 标记细胞，对分选前（左）或分选后（右）的细胞进行流式分析。