

EasySort™ Human CD3⁺ T Cell Isolation Kit

Cat. No: MIH001N

Size: 10/100/200 Assays

产品编号	产品名称	10 Assays	100 Assays	200 Assays	Storage
MIH001NA	EasySort™ Human CD3 ⁺ T Beads Streptavidin 1.0-N	160 µL	800 µL×2	800 µL×4	2-8°C
MIH001NB	EasySort™ Human CD3 ⁺ T Cell Isolation Cocktail	120 µL	1.2 mL	1.2 mL×2	2-8°C
	说明书			1 份	

保存条件

2-8°C 可保存一年，避光保存，避免冻融。

产品简介

人 CD3⁺T 细胞分选试剂盒通过阴性分选法从新鲜人 PBMC 样本或冻存 PBMC 样本中分离出 CD3⁺T 细胞。原理是选用不同的生物素（biotin）标记单克隆抗体对非目的细胞（非 CD3⁺T 细胞）进行标记，而后通过链霉亲和素（streptavidin）标记的磁珠对非目标细胞进行清除，从而达到分离人 CD3⁺T 细胞的目的。它可以保持目的细胞未受刺激的原始状态，得到的细胞不带有任何抗体和磁珠标记。

EasySort™ Human CD3⁺T Cell Isolation Kit 是一款能快速简便的分离出高纯度人 CD3⁺T 细胞的产品，本试剂盒适用于分离新鲜人 PBMC 样本或冻存 PBMC 样本的 CD3⁺T 细胞，分离出的细胞可直接进行下游应用。使用本试剂盒从正常人 PBMC 样本中分选得到的 CD3⁺T 细胞比例为 95.98 ± 1.37%。

自备试剂耗材及仪器

1. 试剂：

PBS、优质胎牛血清、EDTA、人外周血单个核细胞分离液

2. 耗材：

70 µm 细胞筛网、1.5 mL/2 mL EP 管、15 mL/50 mL 离心管、流式管

3. 仪器：

光学显微镜、水平离心机、5 mL 分选磁力架

实验操作指南

以下操作需在无菌条件下进行

➤ 试剂准备

分选 Buffer: 含有 2 mM EDTA 和 2%胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS, 经过 0.22 µm 滤膜过滤除菌后备用。

注：配制后于 4°C 冰箱中密封保存，1 周内使用完。

For Research Use Only

➤ 样本制备与处理

1. 新鲜 PBMC 样本：通过密度梯度离心从新鲜人全血中分离获得 PBMC，用分选 Buffer 洗涤 2 次，300 g 离心 5 min，用 70 μm 细胞筛网过滤，调整细胞密度为 1×10^8 个/mL，即可进行细胞分选。

注：收集的新鲜人血在 1 h 内进行分离效果最佳，10 mL 人血约获得 1×10^7 个 PBMC 细胞。

2. 冻存 PBMC 样本：在进行分选前，用浓度为 100 μg/mL 的 DNase I 溶液 (PBS) 在室温下孵育至少 15 min 后，加分选 Buffer 洗涤 2 次，300 g 离心 5 min，用 70 μm 细胞筛网过滤，调整细胞密度为 1×10^8 个/mL，即可进行细胞分选。

➤ 细胞分选

- a) 将细胞悬液用分选 Buffer 稀释至密度为 1×10^8 个/mL，取 100 μL 细胞悬液 (1×10^7 个细胞) 于 2 mL EP 管中，加入 12 μL Human CD3⁺T Cell Isolation Cocktail，混匀后室温孵育 5 min。

注：请确保细胞为单细胞悬液，样本稀释前用 70 μm 细胞筛网过滤，冻存 PBMC 样本分选前需用 DNase I 处理后再用 70 μm 细胞筛网过滤。

- b) 孵育完成后，加入分选 Buffer 至总体积为 2 mL，300 g 离心 5 min，弃去上清，再加入 100 μL 分选 Buffer 重悬细胞。
- c) 洗涤 Beads Streptavidin 1.0-N：将 Beads 用涡旋仪混匀 20 s 后，取 16 μL 于 1.5 mL EP 管中，并放置在 5 mL 分选磁力架(自备)静置 30 s 磁分离去除上清，用 1 mL 分选 Buffer 吹打混匀 Beads，室温静置 5 min，磁分离去除上清，用 16 μL 分选 buffer 重悬 Beads。
- d) 将细胞转移至流式管底部 (**注：避免沿管壁加入**)，加入 16 μL 洗涤过的 Human CD3⁺T Beads Streptavidin 1.0-N，混匀后室温孵育 5 min。

注：

◇ 如需分选更多细胞，则在保证细胞密度不变的情况下按比例增加 Human CD3⁺T Cell Isolation Cocktail 和 Human CD3⁺T Beads Streptavidin 1.0-N 用量；如果分选少于 1×10^7 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 12 μL Human CD3⁺T Cell Isolation Cocktail 和 16 μL 洗涤过的 Human CD3⁺T Beads Streptavidin 1.0-N。

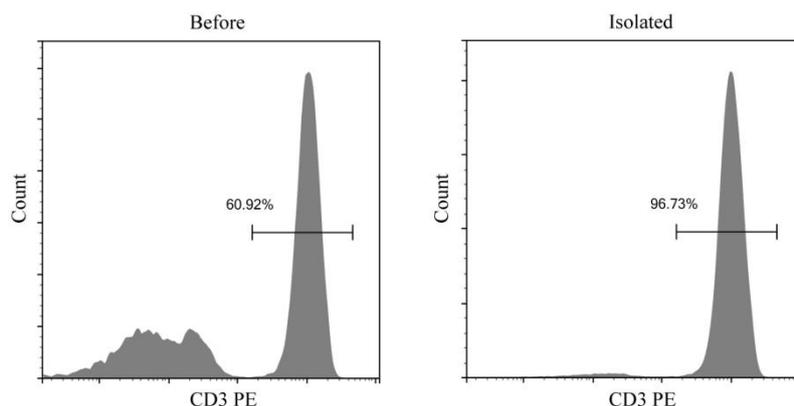
◇ 5 mL 流式管适用分选不超过 1×10^8 个细胞。

- e) 反应结束后添加分选 Buffer 至总体积为 2.5 mL，用移液器上下吹打 7-8 次混匀至无肉眼可见磁珠颗粒，放在 5 mL 分选磁力架 (自备) 上静置磁吸 5 min。

注：加入分选 buffer 后需充分混匀液体，避免磁珠结块影响分选效率。

- f) 将细胞悬液转移至干净的离心管，此为分选得到的人 CD3⁺T 细胞，300 g 离心 5 min，弃上清，加入后续实验所需缓冲液重悬细胞，可直接用于后续细胞培养或其他下游实验。

结果展示



如上图所示，分选前后的 CD3⁺T 细胞纯度用 PE Anti-Human CD3 Antibody [OKT3] (E-AB-F1001D)进行流式细胞术分析，分选前后 CD3⁺T 细胞比例分别为 60.92%和 96.73%。

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。
2. 为了您的安全与健康，请穿戴实验室工作服和一次性手套进行操作，并遵守实验室试剂操作规程。
3. 试剂盒各组份应存放在 2-8°C，避免冻融。
4. 个体血液差异、样本制备及实验操作对最终分选细胞纯度具有重要影响，本产品细胞纯度的统计结果是对正常人 PBMC 样本进行分选后所得。
5. 前期 PBMC 样本的制备质量对本产品分选效果具有重要影响，推荐在 PBMC 样本制备完后检测样本中 CD3⁺T 细胞占比是否处于正常范围（45%-70%），过低可能会导致分选效果差。当 CD3⁺T 细胞占比过低时，推荐重新制备 PBMC 样本。
6. 用于分选的单细胞悬液需用细胞筛网过滤掉细胞团块，避免细胞成团影响分选纯度。
7. 细胞悬液制备后立即进行分选，放置时间越长细胞活性受到的不利影响越大。
8. 细胞悬液和磁珠需直接加入无菌流式管底部，避免粘在壁上导致反应不充分影响分选效率。
9. 为保证细胞活性，实验全过程除室温孵育外，其他操作尽量在冰上完成。
10. 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。
11. 本试剂盒需与磁力架配套使用。