

小鼠CD3⁺ T细胞分选试剂盒

产品描述

小鼠CD3⁺ T细胞分选试剂盒采用磁珠进行阴性分选，从小鼠脾脏或淋巴结的单细胞悬液中分离出 CD3⁺ T细胞（不适用于分选naive 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标细胞（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，从而达到小鼠CD3⁺ T细胞分选的目的。分选过程需要用到磁力架。

主要成分

组分	B90020 (For 2×10 ⁸ cell)	B90021 (For 10 ⁹ cell)
Biotin-Antibody Mix	40 μl	200 μl
Streptavidin	0.4 ml	2 ml

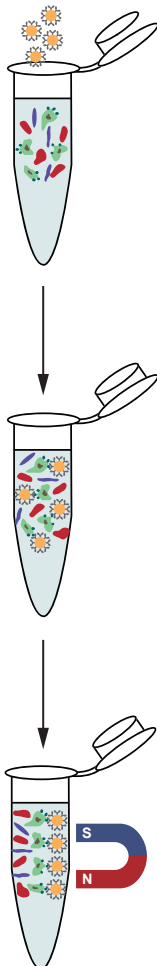
储存条件

2-8°C下稳定保存，有效期2年，不可冷冻。

适用范围

本试剂盒适用于分选小鼠脾脏和淋巴结CD3⁺ T细胞。

操作流程



① 向细胞悬液中加入抗体标记的磁珠。

② 磁珠通过特异性抗体与带有相应抗原的细胞结合。

③ 置于磁场中，与磁珠连接细胞被磁场吸附。

以分选小鼠脾脏CD3⁺ T细胞为例：

1. 制备单细胞悬液：在70μm 细胞筛网上研磨脾脏，以预冷的PBS冲洗细胞筛网，收集细胞悬液于50ml离心管中，500 g，离心5 min。

2. 离心完成后，弃上清，加入5 ml ACK红细胞裂解液，室温裂解5 min，再加入20 ml PBS，500 g，离心5 min。

注意：红细胞裂解步骤可根据所用裂解液不同调整用量及时间。少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。

3. 离心完成后，弃上清，将脾细胞重悬于PBS，细胞悬液用70 μm 细胞筛网过滤后，计数。计数完成后，继续以500 g，离心5 min。

注意：细胞悬液需要过细胞筛网，以除去组织和细胞团块，否则会影响后续细胞分选纯度。

4. 离心完成后，弃上清，将细胞重悬于分选buffer中，调整细胞密度为1×10⁸ cells/ml。

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

5. 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-Ab Mix，混匀后4°C孵育10 min。

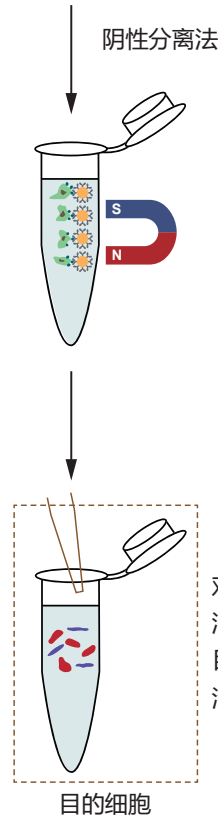
下一页



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn



④ 吸取上清，带有抗原的细胞留在试管里，其它细胞在吸出的上清液中。

对于阴性分离法，分析上清。目的细胞在上清液中。

注意：加入细胞悬液时将细胞加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架特点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-Ab Mix用量。

6. 孵育完成后，在流式管中加入20 μl Streptavidin beads（使用前涡旋振荡重悬磁珠），混匀后4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min。孵育过程中应轻轻敲打管壁1~2次，防止细胞和beads沉降。

注意：如果分选更多细胞，则按比例增加Streptavidin beads用量。例如分选 5×10^7 细胞，则应在500 μl 细胞悬液中加入10 μl Biotin-Ab Mix和100 μl Streptavidin。如果分选少于 1×10^7 个细胞，则将细胞悬液体积补至100 μl ，使用2 μl Biotin-Ab Mix和20 μl Streptavidin。

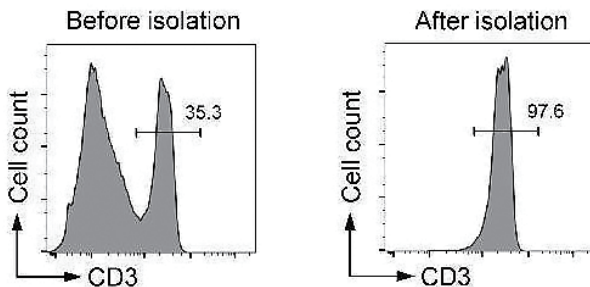
7. 孵育完成后，在流式管加入2.5 ml 分选buffer，以移液器上下混合吹打5次混匀（避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀）。

8. 将含有细胞的分选流式管置于磁力架上（若没有合适的磁力架，可将流式管中液体转移到15 mL离心管中再置于磁力架上），静置5 min。

9. 将细胞悬液倒入无菌离心管中（倾倒过程中流式管不要脱离磁力架）或用吸管吸入离心管中（勿将液体吸尽，防止吸到磁珠），500 g，离心5 min。细胞悬液中即包含纯化的小鼠CD3⁺ T细胞，离心后弃上清，收集细胞。

10. 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。

分选效果示意图



从C57BL/6小鼠脾脏细胞中分选CD3⁺ T细胞，分选前后的细胞用FITC anti-mouse CD3抗体（克隆号145-2C11）标记后进行流式细胞仪分析，分选前后的CD3⁺ T细胞纯度分别为35.3%和97.6%。

注意事项

1. 磁珠和抗体混合液使用和保存过程中均应避免冷冻、高速离心等操作；
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. 本产品需与磁性分离器配套使用；
4. 本产品仅供研究使用。

产品列表

货号	产品名称	规格
B90020	小鼠CD3 ⁺ T细胞分选试剂盒	For 2×10^8 cells
B90021	小鼠CD3 ⁺ T细胞分选试剂盒	For 10^9 cells



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn