

人 CD8⁺ T 细胞分选试剂盒

产品货号: CD08T08

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 CD8⁺ 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 CD8⁺ 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, 从而达到纯化人 CD8⁺ T 细胞的目的。分选过程需要用到磁力架。

产品信息

组分名称	CD08T80-100 规格 (For 10 ⁹ cell)	CD08T80-50 规格 (For 5 × 10 ⁸ cell)
Biotin-Antibody Mix	200 μL	100 μL
GenXion Streptavidin	2 mL	1 mL

储存条件及有效期

2-8°C 保存, 不可冷冻, 有效期见试管标签。

适用范围

本试剂盒适用于从新鲜分离的人 PBMC 或冻存的人 PBMC 中分选出 CD8⁺ 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) 加入一个无菌 1.5 mL 离心管底部, 再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix, 混匀后 4°C 孵育 15 min。加入 10 倍体积的分选 buffer, 500 g, 离心 5 min, 弃上清。用 100 μL 分选 buffer 重悬细胞。

注意: 如果分选更多细胞, 按比例增加 Biotin-Antibody Mix 的用量, 可以使用 15 mL 或 50 mL 离心管进行操作。例如分选 5 × 10⁷ 个细胞, 在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μL Biotin-Antibody Mix, 用 5 mL 分选 buffer 洗涤, 离心后细胞重悬于 500 μL 分选 buffer。

3. 清洗磁珠: 涡旋振荡彻底重悬磁珠, 取 20 μL 磁珠至一个无菌 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 20 μL 分选 buffer 重悬磁珠。

4. 往细胞悬液中加入 10 μL 清洗过的 GenXion Streptavidin, 混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意: 如果分选更多细胞, 则按比例增加 GenXion Streptavidin 用量。例如分选 5 × 10⁷ 个细胞, 往 500 μL 细胞悬液中加入 50 μL

GenXion Streptavidin。如果分选少于 1 × 10⁷ 个细胞, 则将细胞悬液体积补至 100 μL, 使用 2 μL Biotin-Antibody Mix 和 10 μL GenXion Streptavidin 进行分选。

5. 孵育完成后, 将细胞和磁珠混合液转移至一个无菌流式管中, 补加分选 buffer 至 2.5 mL, 用移液器吹打 5 次混匀。

6. 将含有细胞的流式管置于磁力架上, 静置 5 min。

7. 将细胞悬液转移至一个无菌离心管中 (转移细胞悬液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 CD8⁺ T 细胞, 可应用于下游的生物学实验或流式细胞检测。如需进一步提高 CD8⁺ T 细胞的纯度, 将细胞悬液 500 g, 离心 5 min。弃上清, 用 100 μL 分选 buffer 重悬细胞, 继续按照如下步骤进行二次纯化。

注意: 如果分选更多细胞, 则相应增加重悬体积。例如分选 5 × 10⁷ 个细胞, 离心后细胞重悬于 500 μL 分选 buffer。

8. 加入 10 μL 清洗过的 GenXion Streptavidin, 混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意: 如果分选更多细胞, 则按比例增加 GenXion Streptavidin 用量。例如分选 5 × 10⁷ 个细胞, 往 500 μL 细胞悬液中加入 50 μL GenXion Streptavidin。

9. 孵育完成后, 补加分选 buffer 至 2.5 mL, 用移液器吹打 5 次混匀, 将细胞和磁珠混合液转移至一个无菌流式管中。

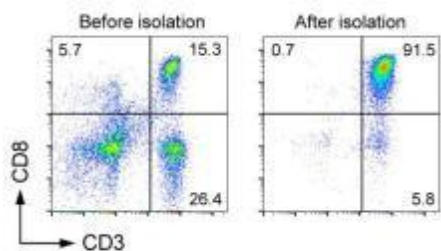
10. 将含有细胞的流式管置于磁力架上，静置 5 min。

11. 将细胞悬液转移至一个无菌离心管中（转移细胞悬液过程中流式管不要脱离磁力架），此细胞悬液中即包含二次纯化的人 CD8⁺ T 细胞。第二次纯化可将 CD8⁺ T 细胞纯度提高 2-4%。

12. 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 CD8⁺ T 细胞，用 PE 标记的 anti- human CD8a 抗体（克隆号 RPA-T8）APC 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⁺CD8⁺T 细胞纯度分别为 15.3%和 91.5%。



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。

官方网址：www.genesion.com.cn

公司邮箱：GenXion@vip.qq.com

订货热线：4006-169-114、020-84224925

