

小鼠 CD3⁺ T细胞分选试剂盒 (阴选)

Mouse CD3⁺ T Cell Isolation Kit (negative selection)

产品描述

TargetMol的小鼠 CD3⁺ T细胞分选试剂盒 (阴选) 提供超顺磁性微珠, 采用阴性分选法, 从小鼠脾脏细胞或其他组织的单细胞悬液中分离出 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, 从而达到小鼠 CD3⁺ T 细胞分选的目的。

细胞分选的产品推荐

1. 小鼠细胞

	脾脏	淋巴结	外周血	骨髓	肿瘤组织
CD3 ⁺ T细胞	C0061		/	/	/
CD4 ⁺ 细胞	C0062 (首选), C0067 (可选)		C0067	/	C0067
CD8 ⁺ 细胞	C0063 (首选), C0068 (可选)		C0068	/	C0068
中性粒细胞	C0064	/	C0064	C0064	/

2. 人源细胞

	外周血	脐带血
CD3 ⁺ T细胞	C0065	/
CD34 ⁺ 细胞富集	C0066	C0066

产品特点

- 纯度高: 分选细胞的纯度高, 可达95%以上。
- 易操作: 无需使用分离柱, 通过磁力架即可实现目标细胞分离。
- 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活, 无抗体和磁珠标记。
- 速度快: 最快只需15 min即可获得目标细胞。

产品应用

- 适用于从小鼠脾脏和淋巴结及其混合样本中分选出CD3⁺ T细胞。

产品组成

产品编号	产品名称	产品包装 (for 5 × 10 ⁸ cells)	产品包装 (for 1 × 10 ⁹ cells)
C0061-1	Biotin-Antibody Mix	100 μL	200 μL
C0061-2	Streptavidin Magnetic Beads	1 mL	2 mL

操作说明

以分选小鼠脾脏中的CD3⁺ T细胞为例:

- 制备单细胞悬液:将脾脏放置在70 μm的细胞筛网上研磨,并用预冷的PBS冲洗筛网,将细胞悬液收集至50 mL离心管中,500 g离心5 min。
- 离心结束后,弃去上清液,加入5 mL红细胞裂解液 (ACK) 并在室温下裂解5 min。随后加入20 mL PBS, 500 g离心5 min。
注:红细胞裂解的时间和用量可根据所用裂解液进行调整,少量红细胞的残留对后续分选和细胞纯度影响不大。
- 离心结束后,弃去上清液,将脾细胞重悬于PBS中,并用70 μm的细胞筛网过滤。细胞计数完成后,再次以500 g离心5 min。
注:为避免组织碎片和细胞团块影响后续分选的纯度,细胞悬液需经过细胞筛网过滤。
- 离心结束后,弃去上清液,将细胞重悬于分选缓冲液中,并调整细胞浓度至 1×10^8 个细胞/mL。
注:分选缓冲液推荐配方:PBS, 含有2 mM EDTA和2% FBS;或PBS, 2 mM EDTA和0.5% BSA。缓冲液需预先经0.22 μm滤膜过滤灭菌。
- 将100 μL的细胞悬液(含 1×10^7 个细胞)加入无菌流式管底部,再加入2 μL Biotin-Antibody Mix,混匀后在4°C下孵育10 min。
注:将细胞加入流式管底部时,避免沿管壁添加。若分选更多细胞,Biotin-Antibody Mix的用量需按比例增加。根据磁力架的不同,也可使用离心管进行细胞分选。
- 磁珠预处理:涡旋振荡重悬磁珠,将所需量的磁珠移至1.5 mL离心管中,加入1 mL分选缓冲液,10000 g离心1 min,弃去上清。重复以上洗涤步骤一次。加入与原体积相同的分选缓冲液重悬磁珠。若使用20 μL磁珠进行清洗,则清洗后用20 μL分选缓冲液重悬。
- 细胞孵育结束后,在流式管中加入20 μL经过预处理的Streptavidin Magnetic Beads,混合均匀,4°C下孵育10 min。
注:若分选的细胞数量较多,Streptavidin Magnetic Beads的用量需按比例增加。例如,分选 5×10^7 个细胞时,在500 μL细胞悬液中加入10 μL Biotin-Antibody Mix和100 μL Streptavidin Magnetic Beads。若分选的细胞少于 1×10^7 个,则应将细胞悬液体积补至100 μL,并加入2 μL Biotin-Antibody Mix和20 μL Streptavidin Magnetic Beads。
- 孵育结束后,在流式管中加入2.5 mL分选缓冲液,用移液器轻轻吹打混匀5次,避免剧烈振荡或上下颠倒混匀。
- 将装有细胞的流式管置于磁力架上静置5 min。
- 将含有纯化CD3⁺ T细胞的细胞悬液轻轻倒入无菌离心管中,倒出过程中流式管保持在磁力架上。500 g离心5 min,弃去上清,收集细胞。
- 根据实验要求洗涤细胞后,将其重悬于所需的缓冲液或培养基中,便可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

保存条件

4 °C, 2 年。

注意事项

- 避免冷冻试剂盒各组分。磁珠应保存在储存溶液中,防止干燥。
- 在从磁珠保存管中取出磁珠之前,应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
- 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管,以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
- 不适用于分选naive CD3⁺ T细胞。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

阴选法和阳选法的比较

磁性细胞分选技术	阴选法	阳选法
样本类型	多样	多样
捕获方式	磁珠结合非目的细胞	磁珠结合目的细胞
是否需要解离	不需要	需要
目的细胞是否有抗体标记	无	有
细胞纯度	>97%	>95%
细胞活性	高	高
特点	目的细胞纯度高; 细胞无抗体、无磁珠残留; 细胞活性更好,适用于下游功能实验。	样本范围更广泛

