

小鼠 CD3+细胞分选试剂盒说明书

1 产品信息

产品名称	货号	产品成分
小鼠 CD3+细胞分选试剂盒	K1301-10	1 mL 小鼠 CD3 生物素抗体 1 mL 链霉亲和素磁珠

2 产品描述

小鼠 CD3+细胞分选试剂盒可以快速、简便地从单细胞悬液中分离出 CD3+细胞。产品粒径小，生物相容性良好，不影响后续实验，主要用于小鼠脾脏、胸腺、淋巴结或外周血单个核细胞（PBMC）的 CD3+细胞分选。

主要原理:通过向单细胞悬液中加入适量的抗体和磁珠,并通过分选柱磁吸附方式获取目的 CD3+细胞。获得的 CD3+细胞可直接用于流式分析、二代测序、细胞培养等下游实验应用。

3 容量

最多可处理 10⁹ 个总细胞，最多可达 100 次分离（10⁷ 个总细胞/次）。

4 运输和保存

- 2~8 °C 运输；
- 2~8 °C 避光存储，不能冷冻，有效期 12 个月。

5 试剂与仪器要求

- 缓冲液：pH 7.2 的磷酸盐溶液(PBS)，含 0.5%牛血清白蛋白(BSA)和 2 mM EDTA；
- 细胞分选柱 LarSep Columns（瑞沃德，货号 HCSC-25）；
- 30 μm 细胞滤器。
- 注意：
- 不建议使用含有 Ca²⁺或 Mg²⁺的 PBS。
 - 避免使用含有大量气泡的缓冲液，以防气泡堵塞分选柱。

6 使用方法

6.1 样本准备

- 1) 处理淋巴器官、非淋巴组织或外周血时，使用单细胞悬液制备仪或手动制备单细胞悬液。
- 2) 用缓冲液润洗 30 μm 细胞滤器后过滤细胞悬液。细胞悬液制备完成后低温保存于 2~8 °C。
- 3) （可选）较多的死细胞或红细胞可能会影响分选效果，可利用死细胞去除试剂和红细胞裂解液去除死细胞和红细胞。

6.2 磁性标记

- 注意：
- 以下步骤给出的试剂推荐用量可处理 10⁷ 个总细胞，如细胞数量少于 10⁷，则按 10⁷ 个细胞加入试剂；如细胞数量多于 10⁷，应按比例相应增加试剂用量。
 - 尽量快速操作，保持细胞冷却，并使用预冷溶液，以减少非特异性细胞标记。
- 1) 测定细胞数量，将细胞悬液浓度调整至 1*10⁸ 个细胞/ mL。
 - 2) 取 100 μL 细胞悬液（含 10⁷ 个细胞）。
 - 3) 加入 10 μL 抗体。
 - 4) 混合均匀，放入冰箱（2~8 °C）孵育 10 min。
 - 5) 用 1~2 mL 缓冲液洗涤细胞，500 g 离心 5 min，彻底弃去上清。
 - 6) 用 100 μL 缓冲液重悬细胞。
 - 7) 加入 10 μL 磁珠。
 - 8) 混合均匀，放入冰箱（2~8 °C）孵育 15 min。

9) 用 1~2 mL 缓冲液洗涤细胞，500 g 离心 5 min，彻底弃去上清。

10) 如细胞数量不超过 1.25×10^8 ，则用 500 μ L ~ 1 mL 缓冲液重悬。若细胞数量超过 1.25×10^8 ，则应增加缓冲液。

11) 进行磁性分选。

6.3 磁性分选

注意：以下每一步加入缓冲液之前都要确保上一次加入分选柱的液体流完（即分选柱下端没有连续的液滴滴下）后再加。

1) 将分选柱放置于合适的磁场中。

2) 用 2 mL 缓冲液洗涤分选柱。

3) 将细胞悬液加入分选柱内。

4) 收集流出液，再分别用 2 mL 缓冲液洗涤分选柱 2~3 次，收集流出液，这是未标记的细胞。

5) 待上一步加入的缓冲液流完后，将分选柱移出磁场置于新的收集管上，加入 2 mL 缓冲液后用分选柱配套的活塞打下缓冲液，得到标记的 CD3+ 细胞。

7 注意事项

1) 本试剂盒有效期为 12 个月，瑞沃德不保证过期产品的有效性。

2) 应保证在无菌条件下完成所有操作。

3) 细胞孵育温度为 2~8 $^{\circ}$ C，高温或延长孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

©2022 深圳市瑞沃德生命科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技有限公司

网址：www.rwdls.com

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区留新四路万科云城三期 C 区九栋 A 座 1901 房

邮编：518000

电话：400-966-9516

传真：+86-755-86146750

7*24 小时售后热线：+86-755-86111281

售后邮箱：service@rwdls.com