

全血CD3分选磁珠，人(92-01-0059)

[组分]

人全血 CD3 磁珠：与抗人 CD3 单克隆抗体（同型：小鼠 IgG2a）偶联的磁珠

[规格] 2 mL，可处理 40 mL 全血。

[保存形式] 全血 CD3 磁珠储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[分选原理]

首先，用全血 CD3 磁珠对全血样本中的 CD3+ 细胞进行磁性标记。然后，将细胞悬浮液装入置于分选器磁场的柱中。磁性标记的 CD3+ 细胞被保留在柱中，未标记的细胞顺着分选柱流出。将柱从磁场中移出后，磁性保留的 CD3+ 细胞可作为正选细胞部分被洗脱出来。

[背景信息]

CD3 全血分选磁珠可直接从抗凝全血中快速阳选 CD3 +细胞。无需进行样本制备，包括密度梯度离心或红细胞裂解，标记后也无需清洗步骤。全血 CD3 磁珠可识别与 T 细胞受体 (TCR) 异源二聚体相关的 CD3 抗原。CD3 表达于所有 T 细胞，占人体外周血白细胞的 15-20%。

[试剂和仪器要求]

- 分离缓冲液： 配制含有 pH7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱
- ▲ 注:EDTA 可由其他补充剂替代,如抗凝柠檬酸葡萄糖配方-A (ACD-A) 或柠檬酸磷酸葡萄糖 (CPD)。 BSA 可以用其他蛋白质代替,例如人血清白蛋白、人血清或胎牛血清。不建议使用含有 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的缓冲液或培养基。
- 手动分离：全血分选柱试剂盒，磁力分选器。
- (可选) 荧光偶联的抗体用于流式分析。
- (可选) PI 或 7-AAD 可以用于流式分析中排除死细胞。
- (可选) 红细胞裂解液。
- (可选) 预分离过滤器（30 μm ）去除细胞团块。

[步骤]

一、样本准备

▲可使用 EDTA、肝素-EDTA、抗凝柠檬酸葡萄糖配方-A (ACD-A) 或柠檬酸盐磷酸葡萄糖 (CPD) 等抗凝剂。在随后的分子生物学应用中，可使用 EDTA 作为抗凝剂。但是，替换 EDTA 会降低纯度和/或回收率。

▲为获得最佳性能，在磁性标记前必须获得单细胞悬浮液。将细胞通过 30 μm 的尼龙网（预分离过滤器（30 μm ）），以去除可能会堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

1. 在含有适当抗凝剂的采血管中收集最多 15 mL 全血。
2. 进行磁性标记。

二、磁珠标记

▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。

▲ 下面给出的磁性标记体积是 1 mL 抗凝全血的体积。当使用较大体积时，请相应放大所有试剂体积和总体积（例如，2 mL 时，请使用两倍的所有指示试剂体积和总体积）。当使用体积低于 1 mL（最小体积为 0.25 mL）时，应相应减少所有试剂体积和总体积。

▲ 建议孵育温度为 2-8 °C。温度过高和/或孵育时间过长可能导致细胞标记不特异。在冰上操作可能需要延长孵育时间。

1. 每 1 mL 抗凝全血加入 50 μ L CD3 全血分选磁珠。
2. 混匀并在冰箱（2-8 °C）中孵育 15 分钟。
- 3.（可选）每 1 mL 全血加入 2-5 mL 分离缓冲液洗涤细胞，然后在室温下于无制动器的吊篮式转子中以 445 \times g 离心 10 分钟。

小心吸除上清液。不要搅动细胞团。保留一定量的上清液（约 1-2 毫米高）以避免细胞丢失。

加入总体积为 1 mL 的分离缓冲液重悬细胞团。

4. 进行磁性分选。

三、细胞分选（使用全血分选柱试剂盒）

1. 将全血柱放入合适的分选器的磁场中。
2. 用 3 mL 分离缓冲液冲洗柱子。
3. 将磁性标记的细胞悬浮液转移到准备好的全血柱上。收集含有未标记细胞的流出液。

▲ 注意：全血柱的储液器最多可容纳 7.5 mL。大于 7.5 mL 的样本应等分加入柱中。

4. 用 2 \times 2 mL 分离缓冲液清洗全血柱。收集通过的未标记细胞，与步骤 3 的流出液合并。

▲ 注意：一定要等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

5. 从分选器中取出全血柱，将其置于新的收集管中。

6. 将 4 mL **全血柱洗脱缓冲液**移至全血柱上。将活塞推入全血柱，立即冲洗出磁性标记的细胞。

7. (可选) 为提高磁性标记部分的纯度，可将洗脱的部分富集到新制备的 xM 分选柱或 xL 分选柱上。

8. (可选) 剩余的红细胞可用红细胞裂解液裂解。