

Anti-human CD3 Nanobeads

Catalog PH003

For processing 1×10^8 cells (PH003S)
For processing 5×10^8 cells (PH003M)
For processing 1×10^9 cells (PH003L)

#Version 26.03



Immuno-X™

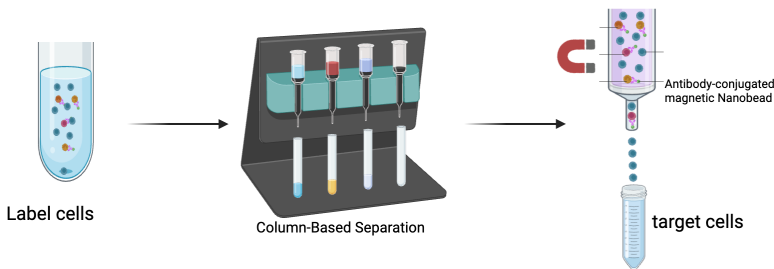
Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

CD3 ϵ 是 CD3/T 细胞受体 (TCR) 复合物的 20 kDa 亚基, 该复合物由两条 CD3 ϵ 链、一条 CD3 γ 链、一条 CD3 δ 链、一条 CD3 ζ 链 (即 CD247) 以及一个 T 细胞受体 (α/β 或 γ/δ) 异二聚体共同构成。CD3 ϵ 广泛表达于所有成熟 T 淋巴细胞、NKT 细胞及部分胸腺细胞表面。CD3 (亦称 T3) 属于免疫球蛋白超家族成员, 在抗原识别、信号转导及 T 细胞活化过程中发挥关键作用。

本产品采用 anti-human CD3 抗体直接偶联纳米磁珠, 可与样本中 CD3+ 细胞特异性结合。在**有柱分选**的磁场中, CD3+ 细胞会被吸附在分选柱中, 其他细胞随重力流出, 从而实现 CD3+ 细胞分选或者去除。分选得到的细胞可直接应用于流式细胞检测、DNA/RNA 提取及后续细胞功能实验等下游研究。

- 纯度最高可达 97%
- 阳选和去除的高效平衡



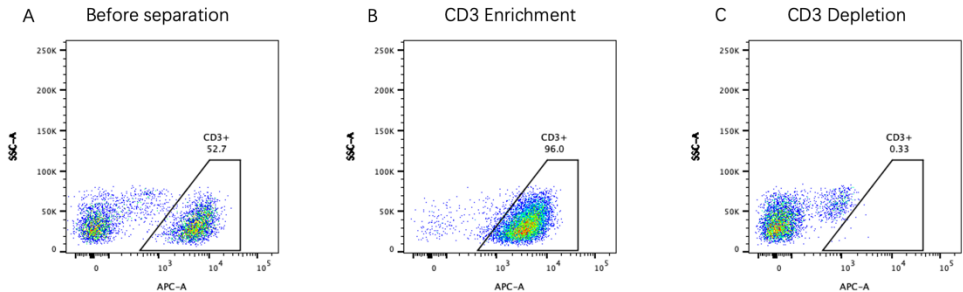
试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-human CD3 Nanobeads	4°C 保存, 避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 CD3 ⁺ 细胞, 通过有柱磁分选获得/去除 CD3 ⁺ 细胞

设备和试剂要求

缓冲液: FACS Buffer (1 x PBS+0.02% EDTA+2% FBS); 耗材: 70 μ m 无菌尼龙滤网, 分选柱; 仪器: 离心机, 磁力架 M1/M8 或者磁力架 L1/L4

数据展示(PBMC)



如图: 采用 anti-human CD3 nanobeads 产品(#PH003)分离 PBMC 中的 CD3+ 细胞。分选前后的细胞用 APC anti-human CD3 抗体标记后进行流式细胞仪分析。(A) 分选前 PBMC 中 CD3+ 细胞比例约为 52.7%。(B-C) 进行细胞分选后, CD3+ 纯度为 96%, 剩余流穿液中, CD3+ 细胞比例仅为 0.33%。

有柱磁珠分选操作步骤

步骤	操作说明	简易操作方法
1	分离 PBMC 细胞，制备单细胞悬液，并进行细胞计数 <i>Note: 推荐细胞采用 AO/PI 染色后进行计数；细胞可以采用 400 g 离心 5 min</i>	制备样本
2	采用 100 μ L FACS buffer 重悬细胞，制备单细胞悬液至指定浓度 1×10^8 cells/mL <i>Note: 如细胞总数为 1×10^7 cells，则细胞重悬至 100 μL 体积</i>	1×10^8 cells/mL
3	加入 20 μ L 的 anti-human CD3 Nanobeads 至样品中，并轻轻混匀 <i>Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下</i>	20 μ L/ 1×10^7 cells
4	磁珠和细胞在 4°C 孵育 10 min	4°C 孵育 10 min
5	加入 5 倍体积 FACS Buffer 到细胞中，400 $\times$ g 离心 5 分钟后，去除上清	洗涤细胞
6	将细胞重悬于缓冲液中 <i>Note: 若细胞总数小于 1×10^8，则采用 500 μL FACS buffer； 若细胞总数大于 1×10^8，需按比例放大缓冲液体积</i>	重悬细胞
7	将分选柱放入对应磁力分选器磁场中，用 FACS Buffer 润洗分选柱 <i>Note: S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	润洗分选柱
8	将细胞悬液加入至分选柱中，非目的细胞（CD3-细胞）随重力流出，CD3+保留在分选柱中 <i>Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 CD3+去除的细胞</i>	上样
9	加入 FACS Buffer 洗涤柱子 3 次 <i>Note: 待柱内液体完全流空后再加下一次；S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	洗涤
10	向柱内加入 FACS Buffer，从磁极上取下分选柱，用配套柱塞快速、用力推压，洗脱磁性标记的阳性细胞 <i>Note: S 分选柱加入 1 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	收集目的细胞
11	（可选）在部分样本中，CD3+细胞比例较低时，可以更换新的分选柱，重复步骤 7-10，可以得到更纯的细胞	进一步纯化

温馨提示

- 采用 FACS Buffer 而不是 PBS 进行操作，能够提高细胞得率和活率
- 确保 FACS Buffer 渗透压稳定，免疫细胞较为敏感
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

表 1：分选柱载量参考表

分选柱	标记细胞数量	总细胞数量	磁极	平衡液体积	洗涤液体积
M 分选柱	$<1 \times 10^7$ cells	$<2 \times 10^8$ cells	磁极 M1/M8	500 μ L	3 $\times$ 500 μ L
L 分选柱	$<1 \times 10^8$ cells	$<2 \times 10^9$ cells	磁极 L1/L4	3 mL	3 $\times$ 3 mL

=