

# EasyIso™ 人 CD3 T细胞分离试剂盒

Catalog #SN3101

For processing  $1 \times 10^8$  cells (SN3101S)

For processing  $5 \times 10^8$  cells (SN3101M)

For processing  $1 \times 10^9$  cells (SN3101L)

#Version 26.01



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

## 产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极分离人PBMC中的T细胞（CD3+）。分离过程中抗体和磁珠不会接触T细胞，能够最大限度保持T细胞最原始的状态。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记非T细胞，再将细胞和链霉亲和素纳米磁珠孵育偶联，然后通过磁极进行无柱分离。目标细胞只需倒入一个新的管中即可分离，分离后的细胞可立即用于后续应用，如流式细胞术、细胞培养和功能实验等。

- 纯度大于90%，最高可到99%
- 18-20分钟完成分离

## 试剂盒组分

| 产品名称                                         | 存储条件       | 缓冲液成分         | 功能                      |
|----------------------------------------------|------------|---------------|-------------------------|
| EasyIso™ Human CD3 T cell Isolation Cocktail | 4°C保存，避免冷冻 | PBS, 0.1% BSA | 识别非CD3 T细胞抗体混合液，标记非目的细胞 |
| EasyIso™ Streptavidin Nanobeads              | 4°C保存，避免冷冻 | PBS, 0.1% BSA | 磁珠结合非CD3 T细胞，通过磁极去除     |

BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline 运输条件：4°C运输

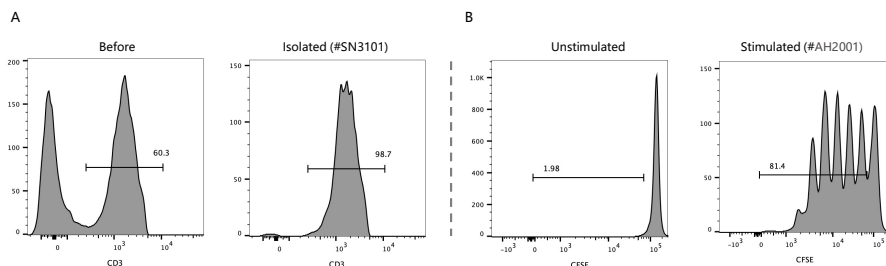
## 设备和试剂要求

- 缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+2% FBS+0.02% EDTA)
- 耗材：无菌流式管(适配单孔磁极#SCJ0005)或者15 mL离心管（适配磁极#SCJ0015）或者50 mL离心管（适配单孔磁极#SCJ0050）
- 仪器：离心机，磁极

## 温馨提示

- 推荐采用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心分离PBMC，不建议采用红细胞裂解液
- 建议采用英诺思生物FACS Buffer（#EISO0500），提高细胞得率和存活率。
- 自行配置的FACS Buffer，请确保渗透压稳定和低内毒素，免疫细胞较为敏感。
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

## 数据展示



如图：采用Immuno-X系列产品分离PBMC中的CD3 T 细胞并进行体外培养。（A）采用（#SN3101）分离健康人PBMC中CD3 T 细胞，采用CD3的流式抗体进行染色，分选后的CD3 T 细胞纯度高达98.7%。（B）通过CFSE荧光染料标记CD3 T 细胞，再采用人原代T细胞激活磁珠（#AH2001）刺激，3天后进行流式分析，可以观察到良好的T细胞增值。



## 操作步骤

| 步骤 | 操作说明                                                                                                                                                                                                                                               | 剂量和时间                                             |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1  | 从外周血通过淋巴细胞分离液密度梯度离心，分离PBMC后，需进行细胞计数<br>Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数；PBMC可以采用400 g离心5 min                                                                                                                                                               | 制备样本                                              |
| 2  | 采用适量FACS buffer重悬细胞，制备PBMC单细胞悬液至指定浓度<br>Note: 分选前样本的细胞浓度不超过 $1 \times 10^8$ cells/mL，试剂根据样品体积等比例调整；<br>如细胞总数为 $1 \times 10^7$ cells，则细胞重悬至100 $\mu$ L体积，后续试剂加10 $\mu$ L即可；<br>单次分选细胞量最好不低于 $1 \times 10^7$ cells，低于该数值，按照 $1 \times 10^7$ cells计算。 | $1 \times 10^8$ cells/mL                          |
| 3  | 加入EasyIso™ Human CD3 T Cell Isolation Cocktail至样品中，轻轻混匀<br>Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下                                                                                                                                                              | 100 $\mu$ L/mL                                    |
| 4  | Cocktail中的抗体和细胞孵育10 min                                                                                                                                                                                                                            | 常温孵育10 min                                        |
| 5  | (可选) 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，再加入步骤2中等量的FACS buffer重悬细胞<br>Note: 这一步骤针对部分患者的PBMC样本，健康人PBMC可以跳过本步骤                                                                                                                           | 洗涤游离的抗体并重悬细胞                                      |
| 6  | 震荡混匀 Streptavidin Nanobeads                                                                                                                                                                                                                        | 混匀5-30 s                                          |
| 7  | 加Streptavidin Nanobeads至样品中                                                                                                                                                                                                                        | 100 $\mu$ L/mL                                    |
| 8  | 轻柔混匀磁珠和细胞，常温孵育5 min<br>Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下；<br>本步骤中磁珠会出现沉底的情况，可以在2.5min时，再次混匀一下                                                                                                                                                             | 常温孵育5 min                                         |
| 9  | 加入FACS Buffer到样品中，立即放置在磁极上，防止磁珠大量沉底                                                                                                                                                                                                                | 总体积加入至2.5 mL (5 mL流式管)<br>总体积加入至7.5 mL (15 mL离心管) |
| 10 | 样品置于磁极上，使磁珠吸附在管壁上                                                                                                                                                                                                                                  | 单孔磁力架吸附 (3 min)<br>联排磁力架吸附 (5 min)                |
| 11 | 倾斜磁力架，将样品倒入新的收集管中，收集样品<br>Note: 分选后的细胞可采用400g离心10分钟，用于后续培养和分析                                                                                                                                                                                      | 细胞分离成功                                            |

细胞分选试剂使用剂量表(PBMC浓度为 $1 \times 10^8$  cells/mL)

| 细胞总量                  | 细胞体积        | Isolation Cocktail | Streptavidin Nanobeads | 磁极类型       |
|-----------------------|-------------|--------------------|------------------------|------------|
| $1 \times 10^7$ cells | 100 $\mu$ L | 10 $\mu$ L         | 10 $\mu$ L             | 5 mL 单孔磁极  |
| $2 \times 10^7$ cells | 200 $\mu$ L | 20 $\mu$ L         | 20 $\mu$ L             | 5 mL 单孔磁极  |
| $5 \times 10^7$ cells | 500 $\mu$ L | 50 $\mu$ L         | 50 $\mu$ L             | 5 mL 单孔磁极  |
| $1 \times 10^8$ cells | 1 mL        | 100 $\mu$ L        | 100 $\mu$ L            | 5 mL 单孔磁极  |
| $2 \times 10^8$ cells | 2 mL        | 200 $\mu$ L        | 200 $\mu$ L            | 15 mL 联排磁极 |
| $5 \times 10^8$ cells | 5 mL        | 500 $\mu$ L        | 500 $\mu$ L            | 15 mL 联排磁极 |
| $1 \times 10^9$ cells | 10 mL       | 1 mL               | 1 mL                   | 50 mL 单孔磁极 |
| $2 \times 10^9$ cells | 20 mL       | 2 mL               | 2 mL                   | 50 mL 单孔磁极 |