

人 CD8+细胞分离试剂盒使用说明书（正选）

【产品名称】

中文名称：人 CD8+细胞分离试剂盒

英文名称：Human CD8+ cell isolation kit

【编号】

Flosep-C-008P

【细胞处理量】

用于处理 1×10^9 个细胞

【分选方法】

正选

【试剂盒组成】

成份名称	物理性状	规格	数量
生物素化人 CD8 抗体	无色透明液体	1mL/支	2 支
链霉亲和素磁珠	棕色混悬液	1mL/支	1 支
细胞分选缓冲液	无色透明液体	500mL/瓶	1 瓶

【预期用途】

适用于从人外周血、浓缩白细胞来源的单个核细胞中正选出 CD8+细胞。

【贮藏条件与有效期】

生物素化人 CD8 抗体，链霉亲和素磁珠及细胞分选缓冲液均置于 2-8°C 保存，有效期为 12 个月；
生产日期、有效期至：见标签。

【产品简介】

本产品能够从新鲜或冻存的外周血单个核细胞中简便、快捷地分选出高纯度的 CD8+细胞。能够处理的总细胞量为 1×10^9 ，可为基础和临床研究使用 CD8+细胞提供一个有力的武器。

【操作步骤】

一 单个核细胞的提取（以 50mL 外周血为例）

1.取 50mL 外周血，若需要提取血浆，则取血浆提取后的下层红色细胞沉淀，加入生理盐水或 PBS 至原体积；

2.取 2 支 50mL 离心管，分别加入 15mL 淋巴细胞分离液，并将 1 步骤中的血样分别缓缓铺加到淋巴细胞分离液的上层；

注意：铺加血样时建议速度适中，尤其是刚开始的铺加，避免破坏淋巴细胞分离液与血样的界面。

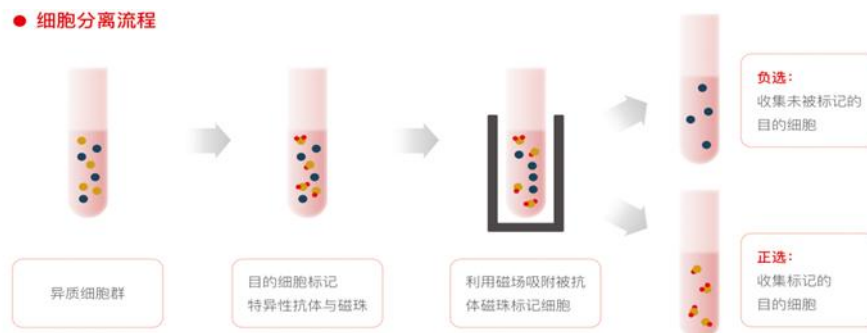
3.室温下，800g 离心 20min（无闸减速）；

4.离心后，离心管中样品由上到下分为 4 层：血浆层-白膜层-人淋巴细胞分离液层-红细胞与粒细胞的沉淀。分别小心吸取白膜层及其以下约一半的液体于新的离心管中，并加入生理盐水或 PBS 至 40mL 体积，混匀，300g 离心 10min；

5.弃上清，沉淀再次用 40mL 的生理盐水或 PBS 重悬，300g 离心 10min；

6.弃上清，沉淀即为 PBMC，备用。

二 人 CD8+细胞分离



注意：整个细胞分离过程可大致分为 PBMC 细胞密度调整-生物素化抗体孵育-洗涤-磁珠孵育-磁吸等步骤，其中生物素化抗体孵育在离心管操作即可，磁珠的孵育与磁吸等则转移至流式管中操作。

1 调整细胞密度：将欲操作的 PBMC 细胞浓度调整为 1×10^8 cells/mL；

注意：

1) 若 PBMC 为冻存细胞，可直接用预冷的细胞分选缓冲液复苏洗涤；若 PBMC 为新鲜提取的细胞，则可在 PBMC 提取的最后一步洗涤操作中用细胞分选缓冲液洗涤；

2) 若所要分离的细胞数量过少，例如只有 1×10^7 cells，则可将细胞密度调整为 5×10^7 cells/mL。

2 生物素化抗体孵育：将生物素化抗体以 200uL 抗体/ 1×10^8 初始 PBMC 的比例将加入细胞悬液中，

迅速用移液枪轻柔吹打，充分混合后置于 4°C 孵育 15min；

3 洗涤：孵育完毕后，加入细胞分选缓冲液，300g 离心 10min 后，弃上清，加入一定量的细胞分选缓冲液，使细胞悬液体积恢复到初始时的水平；

注意：弃上清时，往往在管口处残留些许缓冲液，尽可能将这些残留液用移液枪等吸取干净，必要时可再次用缓冲液洗涤，避免残留液中的部分抗体成分对后续的磁珠与细胞的结合产生干扰。

4 磁珠孵育：将细胞悬液转移至流式管，以 100uL 磁珠/ 1×10^8 初始 PBMC 的比例将链霉亲和素磁珠加入到 PBMC 中，迅速用移液枪轻柔吹打均匀，4°C 孵育 10min；

注意：磁珠吸取前需将磁珠溶液充分振荡或吹吸均匀。

5 磁吸：孵育完毕后，加入分选缓冲液至 2.5mL，轻柔吹打均匀，将流式管置于磁极中，磁吸 3min，手握磁极倾倒液体，倾倒出的液体为不含 CD8 细胞的细胞悬液；

注意：倾倒液体时，速度不可过快，避免造成过快的液体流速冲刷出已磁吸在管壁的细胞

6 再次磁吸：加入与第 5 步同体积的细胞分选缓冲液，轻柔吹散磁珠后再次磁吸 3min，吸弃或收集未磁吸的细胞；

注意：1) 多次磁吸洗涤可提高 CD8+细胞的纯度；

2) 若目的为收集非 CD8+细胞，则需要合并多次磁吸洗涤过程中的未磁吸细胞。

7 所得磁吸细胞即为 CD8+细胞。

【纯度检测】

可用抗人 CD8 流式抗体（克隆号为 RPA-T8）进行纯度与得率的鉴定。

【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

【生产企业】

企业名称：福建三一造血技术有限公司

生产地址：福建省福州市高新技术产业园创新园 10 号楼

邮政编码：350108

电话号码：(0591) 22889285/4001155980

邮箱地址：sales@stemery.cn

网址：<http://www.stemery.cn>

