

人 Pan T 细胞阴选试剂盒（无柱）

Human Pan T Cell Negative Selection Kit (Column-free)

货号	HXL-0000HF3-0.1 / HXL-0000HF3-1	规格	0.1 mL（最多 1×10^6 起始细胞） / 1 mL（最多 1×10^7 起始细胞）
用途/方式	阴性选择 · 无柱法	推荐用量	1×10^6 起始细胞 / 标准反应
适用样本	人 PBMC、白膜层及人源单细胞悬液	保存条件	2–8°C 保存；SA 磁珠禁止冷冻

仅供科研使用（RUO），不用于临床诊断或治疗。

1. 产品信息

项目	内容
产品名称	人 Pan T 细胞阴选试剂盒
英文名称	Human Pan T Cell Negative Selection Kit
品牌	弘溪联 RedConju
分选方式	阴性选择；取上清获得未被磁珠结合的目标 T 细胞
适用样本	人 PBMC、白细胞或其他人源单细胞悬液
试剂盒规格	最高可处理 1×10^7 个起始细胞
标准反应单位	每 1×10^6 个细胞使用 10 μ L Cocktail 抗体 + 10 μ L SA 磁珠；并按流程加入 60 μ L + 480 μ L 分选 Buffer
保存条件	2–8 °C 保存；避免冷冻 SA 磁珠
用途	仅供科研使用（RUO），不用于临床诊断或治疗

2. 试剂盒组成

组分	规格	说明
人 Pan T 阴选 Cocktail 抗体	1 mL	用于标记非目标细胞
SA 磁珠	1 mL	与生物素化抗体结合，用于磁性去除非目标细胞
说明书	1 份	本文件

注：分选 Buffer 需自备，可使用 0.1% BSA-PBS buffer 或 2% FBS-PBS buffer, pH7.4。 1×10^6 个细胞全量操作时，理论需约 54 mL 分选 Buffer，其中抗体孵育后加入约 6 mL，磁珠孵育后加入约 48 mL。

3. 分选原理

本试剂盒通过生物素 Cocktail 抗体标记非 T 细胞，再加入 SA 磁珠结合被标记细胞。经磁吸后，被标记的非目标细胞保留在磁场侧，未被结合的 CD3 $^{+}$ T 细胞 保留在上清中。

本产品为阴选体系，目标细胞不直接与磁珠结合，最终收集磁吸后的上清液。

4. 实验前准备

项目	要求
细胞状态	制备单细胞悬液，尽量去除团块、死细胞、红细胞和血小板残留。
细胞计数	准确计数后，按每 1×10^6 个细胞重悬至 40 μL 细胞悬液。
分选 Buffer	0.1% BSA-PBS buffer 或 2% FBS-PBS buffer，建议预冷并全程保持一致。
磁珠处理	使用前充分重悬 SA 磁珠，确保磁珠均一。
耗材建议	根据总反应体积选择合适离心管；处理大于 1×10^6 个细胞时建议分管操作。

5. 标准操作流程

步骤	操作内容	条件	时间 / 体积
1	准备细胞悬液。	—	40 μL ；含 1×10^6 cells
2	加入生物素 Cocktail 抗体，轻柔混匀。	2–8 $^{\circ}\text{C}$	10 μL
3	抗体孵育。	2–8 $^{\circ}\text{C}$	10 min
4	加入分选 Buffer，轻柔混匀。	0.1% BSA-PBS 或 2% FBS-PBS	60 μL
5	加入 SA 磁珠，轻柔混匀。	室温	10 μL
6	磁珠孵育。	室温	5 min
7	再次加入分选 Buffer，轻柔混匀。	0.1% BSA-PBS 或 2% FBS-PBS	480 μL
8	第一次磁吸。	磁力架（常温）	5 min（如果是联排磁力架7 min）
9	将上清液转移至新的离心管中，避免吸到磁珠。	—	—
10	第二次磁吸。	磁力架（常温）	2 min
11	收集上清液，上清即为富集后的 CD3 γ T 细胞。	—	取上清

6. 标准反应体系

组分	标准用量	备注
细胞悬液	40 μL	含 1×10^6 cells
生物素 Cocktail 抗体	10 μL	按细胞数等比例增加
分选 Buffer I	60 μL	抗体孵育后加入；按细胞数等比例增加
SA 磁珠	10 μL	按细胞数等比例增加；使用前充分重悬
分选 Buffer II	480 μL	磁珠孵育后、磁吸前加入；按细胞数等比例增加
磁吸前总体积	600 μL	加入 Buffer II 后进入磁吸步骤

7. 用量调整原则

以 1×10^6 个细胞为 1 个标准反应单位。更多细胞时，细胞悬液体积、Cocktail 抗体、SA 磁珠、分选 Buffer I 和分选 Buffer II 均按比例同步增加。

计算方式：放大倍数 $n = \text{起始细胞数} \div 1 \times 10^6$ 。各组分用量 = 标准用量 $\times n$ 。

示例：如果起始细胞为 5×10^6 个，则使用 200 μL 细胞悬液、50 μL Cocktail 抗体、300 μL Buffer I、50 μL SA 磁珠、2.4 mL Buffer II。

起始细胞数	细胞悬液体积	Cocktail 抗体	Buffer I	SA 磁珠	Buffer II	磁吸前总体积
1×10^6	40 μL	10 μL	60 μL	10 μL	480 μL	600 μL
2×10^6	80 μL	20 μL	120 μL	20 μL	960 μL	1.2 mL
5×10^6	200 μL	50 μL	300 μL	50 μL	2.4 mL	3.0 mL
1×10^7	400 μL	100 μL	600 μL	100 μL	4.8 mL	6.0 mL
5×10^7	2.0 mL	500 μL	3.0 mL	500 μL	24 mL	30 mL
1×10^8	4.0 mL	1.0 mL	6.0 mL	1.0 mL	48 mL	60 mL

8. 结果判读与检测建议

项目	说明
最终收集物	第二次磁吸后的上清为富集后的人 Pan T 细胞，主要为 CD3 $^{+}$ T 细胞。
被去除细胞	被 Cocktail 抗体标记并与 SA 磁珠结合的非目标细胞。
检测方式	建议用 CD45、CD3、CD4、CD8 等抗体检测纯度；也可根据实验目的加入 CD19、CD14、CD16、CD56、CD11b 等排除性标记。
纯度计算	建议在单细胞、活细胞、CD45 $^{+}$ 门内统计目标 T 细胞比例。

9. 注意事项

- 10M 表示 10 million cells，即 1×10^6 cells；本说明书标准反应单位为 40 μL 细胞悬液含 1×10^6 cells。
- Cocktail 抗体孵育建议在 2–8 $^{\circ}\text{C}$ 进行；SA 磁珠孵育按本说明书在室温进行。
- 加入 SA 磁珠前应充分重悬磁珠；加样后轻柔混匀，避免局部磁珠浓度过高。
- 加入 60 μL Buffer I 和 480 μL Buffer II 后均需轻柔混匀；若细胞数增加，两次 Buffer 体积必须同步增加。
- 第一次磁吸后转移上清时，枪头不要接触磁珠沉积区。第二次磁吸可进一步降低游离磁珠和残留被标记细胞。
- 若处理细胞数较大，建议分管操作，避免管内液面过高或磁吸距离过大导致去除不充分。
- 细胞团块、死细胞、红细胞、血小板残留或样本黏稠会影响阴选纯度和回收率，建议分选前充分过滤并准确计数。

10. 常见问题排查

问题	可能原因	建议处理
纯度偏低	非目标细胞标记不足、磁珠未充分重悬、磁吸时间不足或样本含团块。	确认 Cocktail、SA 磁珠和两次 Buffer 已按细胞数等比例增加；充分混匀磁珠；过滤细胞悬液；必要时分管操作。
回收率偏低	细胞团聚、过度吹打、磁吸时扰动目标细胞或吸走沉积区细胞。	降低机械损伤；轻柔移液；转移上清时避开磁珠沉积区；保证 Buffer 中含蛋白保护组分。
上清残留磁珠	第一次磁吸后转移时带入磁珠。	严格执行第二次 2 min 磁吸；取上清时保留少量液体不吸尽。
不同批次结果波动	样本来源、血小板/红细胞残留、死细胞比例或计数误差差异。	统一样本处理流程；记录起始细胞数、活率、细胞浓度和实际加样体积。