人外周血 CD8+T 细胞（阴选）

一、细胞简介	
细胞简介	细胞杀伤 T 细胞属于 T 淋巴细胞的亚群，可诱导受感染细胞和肿瘤细胞的死亡。大多数 T 淋巴细胞表达表达可识别与 I 类 MHC 分子和 CD8 糖蛋白结合的特异性抗原肽的 T 细胞受体。细胞利用自有的 Flosep-C 细胞分离纯化技术从外周血中纯化出 CD8 +杀伤 T 细胞，经流式检测，其纯度大于 80%，纯化后置于液氮保存。
细胞名称	人外周血 CD8+T 细胞
细胞货号	Delf-28846
规格	1M
二、操作步骤	
所需试剂	1、IMDM，α-MEM 或 RPMI-1640 2、FBS 3、DNase I
操作流程	1、准备好 37° C 水浴，将 RPMI-1640 与 FBS 温浴至 37° C； 2、生物安全柜中，配制含 10%FBS 的培养基（IMDM，α-MEM 或 RPMI-1640 均可），待用； 3、从液氮中取出 CD3+CD8+ T 细胞冻存管，置于-80° C 超低温冰箱中数分钟，使冻存管中的液氮挥发，而后迅速将其置于 37° C 温水中，并快速水平晃动，使其内含物尽快融化，直至冻存管固体内含物余下一小冰屑后取出冻存管； 注意： 1）从液氮中取出冻存管时，往往在冻存管里含有液氮，最好先将冻存管先置于超低温冰箱中，使液氮挥发，再进行水浴化冻的操作； 2）尽可能将冻存管的内含物全部浸没于 37° C 温水中，使内含物均匀融化； 3）请勿使温水没过冻存管盖的螺口，以防污染； 4）细胞复苏的操作过程要迅速，避免影响细胞复苏后的活性。 5）采用正选（Positive selection）方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠，故可能冻存管中细胞颜色较深，此为正常现象，不影响后续复苏和使用。 4、在将冻存管拿进生物安全柜之前，用 75%酒精对其表面进行消毒； 5、轻轻重悬细胞，并将其移入装有 100μg DNase I 的 50mL 离心管里； 注意： 1）加入 DNase I 可有效减少细胞复苏后细胞团块的产生； 2）DNase I 的使用是非必须的，对于 DNA，RNA 等的提取目的可不使用。 6、用 1mL 培养基冲洗冻存管，并将此悬液以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中，并且同时轻轻摇晃离心管，使滴加的悬液混匀； 7、吸取 15-20mL 的培养基以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中，并且同时轻轻摇晃离心管，使滴加的悬液混匀； 注意：第 5,6,7 步骤可使细胞中的 DMSO 缓慢均匀的渗透出来，最大程度保证细胞安全，但操作较为缓慢，若有多个样品需要处理时，可以将操作步骤更改为：

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供
发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD
发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

	5’：轻轻重悬细胞，并将其移入装有 100μg DNase I 的 15mL 离心管里； 6’：用 1mL 培养基冲洗冻存管，并将此悬液合并到到 15mL 离心管里； 7’：吸取 10mL 培养基，直接加入到 15mL 离心管中，反复轻柔吹打或上下颠倒混匀，室温孵育 10min； 8、室温下，300g 离心 10min； 9、迅速使用移液枪吸走上清，剩余少许液体，并轻轻吹打液体使细胞悬浮； 注意： 1）离心结束后，尽快吸走上清； 2）吹打液体时动作要轻，避免损伤细胞，并且吹打时尽可能避免气泡产生。 10、缓慢加入 15-20mL 新鲜培养基（快速法中则只要在 15mL 离心管中加入 10mL 培养基即可）， 并同时轻轻摇晃离心管； 11、室温下，300g 离心 10min； 注意：采用正选（Positive selection）方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠，故离心后管中细胞沉淀颜色较深，此为正常现象，不影响后续使用。 12、迅速使用移液枪吸走上清，剩余少许液体，并轻轻吹打液体使细胞悬浮，此 CD3+CD8+ T 细胞即可用于下游实验。
三、注意事项	
注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂（100x） 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂（1000x） 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂（2000×） 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂（500x） 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂(1000x) 1ml Delf-17027