

## Lymphocytes Subgroup Typing Kit (Human)

### 人淋巴细胞亚群分析试剂盒

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Lymphocytes Subgroup Typing Kit (Human) 人淋巴细胞亚群分析试剂盒	40404ES50	50 T

#### 产品描述

根据生物学功能及细胞表面的抗原表达，可以将人外周血淋巴细胞分为三群：T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和 NK 细胞。T 淋巴细胞的作用主要是参与特异抗原介导的细胞免疫反应，并调节 B 淋巴细胞分泌免疫球蛋白。T 淋巴细胞按其功能又可进一步分为辅助/诱导性 T 细胞和抑制/细胞毒性 T 细胞。NK 细胞，即自然杀伤细胞，介导对某些肿瘤细胞和病毒感染细胞的细胞毒作用，而不依赖于 MHC I 类和 II 类分子的存在。

人淋巴细胞亚群分析试剂盒是由一系列双色荧光标记抗体组成的试剂盒，主要用于检测外周血淋巴细胞各亚群占总淋巴细胞的百分率，即成熟 T 淋巴细胞（CD3+）、辅助/诱导性 T 细胞（Th/i :CD3+CD4+）、抑制/细胞毒性 T 细胞（Ts/c: CD3+CD8+）、B 淋巴细胞（CD19+）和 NK 细胞（CD3-CD16+和/或 CD56+）；还可以计算出 Th/Ts（CD3+CD4+/CD3+CD8+）细胞的比例。

相对于传统的分析淋巴细胞亚群的方法，流式细胞术将抗体的特异性和流式细胞仪分析单个细胞的敏感性结合起来，使得这一分析方法更精确、更简便。

#### 产品组分

编号	组分	产品规格
40404-A	MIgG2a-FITC/MIgG1-PE	1 mL
40404-B	CD45-FITC/CD14-PE	1 mL
40404-C	CD3-FITC/CD19-PE	1 mL
40404-D	CD3-FITC/CD4-PE	1 mL
40404-E	CD3-FITC/CD8-PE	1 mL
40404-F	CD3-FITC/CD16-PE/CD56-PE	1 mL
40404-G	10×RBC Lysing Buffer	2×30 mL

#### 运输和保存方法

运输方式：冰袋运输

保存方式：4℃避光保存，严禁冻存，避免直接暴露于光线下。

## 注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 孵育时间、温度及离心时间应参考操作说明, 否则可能影响实验结果。
- 3) 服用免疫抑制剂的患者其结果可能会异常。
- 4) 溶血标本不能用本试剂盒检测。
- 5) 抗体试剂中均含有防腐剂叠氮钠, 是一种有毒物质, 操作时避免与皮肤、粘膜接触。
- 6) 本试剂盒只对人的标本做过检测, 未对其它的物种进行检测。
- 7) 本产品仅作科研用途!

## 产品应用:

**试剂 40404-A:** MIgG2a-FITC/MIgG1-PE, 同型对照; 用于设定阴性范围, 消除非特异性荧光的干扰。

**试剂 40404-B:** CD45-FITC/CD14-PE, 用于淋巴细胞圈门。CD45-FITC, 识别所有白细胞; CD14-PE, 识别人单核细胞及少量粒细胞。

**试剂 40404-C:** CD3-FITC/CD19-PE, 用于确定 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的百分率。CD3-FITC, 识别所有成熟 T 淋巴细胞; CD19-PE 识别所有 B 淋巴细胞。

**试剂 40404-D:** CD3-FITC/CD4-PE, 用于确定辅助性 T 淋巴细胞 (CD3+CD4+) 占总淋巴细胞的百分率; CD4-PE, 识别辅助性 T 细胞 (Th/i) 及单核细胞。

**试剂 40404-E:** CD3-FITC/CD8-PE, 用于确定抑制性 T 淋巴细胞 (CD3+CD8+) 占总淋巴细胞的百分率; CD8-PE, 识别抑制性 T 细胞 (Ts/c) 及 NK 细胞。

**试剂 40404-F:** CD3-FITC/CD16-PE/CD56-PE, 用于确定 T 淋巴细胞和 NK 细胞的百分率; CD16 与 CD56 抗体识别 NK 细胞。

## 使用方法

### 1 标本的采集与制备

EDTA 抗凝的静脉血 (至少 1 mL), 建议标本在采集后 6 h 内进行染色分析。检测的外周血白细胞浓度在  $3.0 \times 10^3 \sim 10.0 \times 10^3$  个/ $\mu\text{L}$ 。(若高于  $10.0 \times 10^3$  个/ $\mu\text{L}$ , 则需要稀释血标本; 若低于  $10.0 \times 10^3$  个/ $\mu\text{L}$ , 则需要增加标本量或分离白细胞)

### 2 红细胞裂解液的稀释

用去离子水稀释溶液 40404-G 到 1×工作液, 红细胞裂解液的溶血效力受温度影响, 使用前要预先平衡至室温 ( $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ )。

【注】稀释后避光室温保存, 根据每次所需量进行稀释。

### 3 染色及固定细胞

1) 每份病人标本用六根  $12 \times 75$  mm 流式管, 分别标上样品编号 (1、2、3……) 和管号 (A、B、C、D、E、F)。

2) 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 A 加入到每份样品的 A 管中, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 B 加入到每份样品的 B 管中, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 C 加入到每份样品的 C 管中, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 D 加入到每份样品的 D 管中, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 E 加入到每份样品的 E 管中, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂 F 加入到每份样品的 F 管中。

3) 向每份标本的试管中加入 100  $\mu\text{L}$  抗凝全血, 充分混匀, 室温 ( $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ ) 避光反应 20~30 min。

4) 每管加入 2 mL (1×) 红细胞裂解液 ( $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ ), 充分混匀, 室温避光反应 10~12 min, 至液体透明。

5) 1000 rpm 离心 5 min, 弃上清。

6) 加入 2 mL PBS 洗涤, 1000 rpm 离心 5 min, 弃上清。

7) 加入 0.5 mL 2% 甲醛溶液固定细胞, 混匀, 24 h 内上流式细胞仪分析。

【注】若细胞染色后立即上流式细胞仪分析, 则不需要用甲醛固定, 用 0.5 mL PBS 洗涤重悬细胞即可上机分析。

### 4 流式检测

用流式细胞仪检测, 激发波长  $\text{Ex}=488$  nm; 发射波长  $\text{Em}=578$  nm, PE 的橙红色荧光建议使用 FL2 通道检测; FITC 最大激发波长为  $\text{Ex}=488$  nm, 最大发射波长  $\text{Em}=525$  nm, FITC 的绿色荧光在 FL1 通道检测。使用试剂 40404-A 作为阴性对照, 试剂 40404-B 用于淋巴细胞圈门。