

T细胞分选试剂盒II, 小鼠(92-01-0113)

[组分] 1mL T 细胞生物素-抗体混合物, 小鼠: 偶联 CD11b, CD11c, CD19, CD45R(B220), CD49b(DX5), CD105, MHC II 类和 Ter-119 单抗的生物素混合物。

2mL 抗生物素抗体磁珠: 与抗生物素单抗偶联的磁珠(同型: 小鼠 IgG1)。

[规格] 可分选 10^9 总细胞数。

[保存形式] 所有组分均保存在含有稳定剂和 0.05%叠氮钠的溶液中。

[储存条件] 在 2–8°C 条件下避光保存, 请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[试剂和设备]

- 缓冲液: 含有 pH7.2、0.5%BSA 和 2mM EDTA 的溶液。保持缓冲液冷却状态(2–8°C)。
- 分选柱和分选器, 也可以使用自动分选器进行操作。
- (可选) 预分离过滤器用于去除细胞团块。

[1. 自动分选仪磁性标记、分选]

▲如何使用自动分选仪, 请参阅用户手册。

▲所有缓冲温度应为 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 。

▲将试管放置在以下位置: 位置 A=样品, 位置 B=阴性部分, 位置 C=阳性标记部分。

1. 细胞计数。
2. 打开仪器, 进行自动初始化。
3. 转到**试剂菜单**并选择**读取试剂**。用自动分选仪上的条形码扫描仪扫描每个试剂的条形码。将试剂放入试剂架上的适当位置。
4. 将样品和采集管放入冷藏架。

5. 点击分选菜单, 从标签子菜单中选择每个样品的名称(将自动选择正确的标记、分选和洗涤方案)。
6. 将样本体积输入到体积子菜单中。按 Enter 键。
7. 选择运行。
8. 在位置 B 收集浓缩的 T 细胞部分是阴性部分。

[2. 手动磁性标记]

▲过程操作速度要快, 试剂需提前预冷。可以减少非特异性细胞标记。

▲磁性标记的体积最多可达 10^7 个细胞。少于 10^7 个细胞时, 请使用标示的相同体积。当处理更多的细胞时, 相应地放大所有试剂体积。

▲为了获得最佳性能, 在磁分选之前获得单细胞悬浮液是很重要的。通过预分离过滤器去除可能堵塞分选柱的细胞团块。

1. 准备细胞, 并进行细胞计数。
2. 每 10^7 细胞, 用 40 μL 缓冲液重悬。
3. 每 10^7 细胞加 10 μL 的生物素-抗体混合物。
4. 混合均匀, 在冰箱(2–8°C)孵化 5 分钟。
5. 每 10^7 总细胞加 30 μL 缓冲液。
6. 每 10^7 细胞加 20 μL 的抗生物素抗体磁珠混合物。
7. 混合均匀, 在冰箱(2–8°C)孵育 10 分钟。
8. 继续进行后续磁性分选。

▲注: 磁性分选要求最少体积 500 μL 。如有必要, 在细胞悬液中加入缓冲液。

[3. 手动磁性分选]

▲始终等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

9. 将 xL 柱置于合适的分选器磁场中。
10. 用 3mL 缓冲液冲洗分选柱。
11. 将细胞悬液转移到柱子上。收集通过的未标记细胞, 代表富集的 T 细胞。
12. 用 3mL 缓冲液清洗分选柱。收集通过的未标记细胞, 代表富集的 T 细胞, 并与步骤 11 的流出物合并。

13. (可选)将分选柱从分选器上取出，并将其放在合适的收集管上。将 5mL 缓冲液加到分选柱上。将柱塞快速地推入柱中，立即冲洗出磁性标记的非 T 细胞。

[4.自动磁性分选]

▲如何使用自动分选仪，请参阅用户手册。

▲所有缓冲温度应为 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 。

▲将试管放置在以下位置：位置 A=样品，位置 B=阴性部分，位置 C=阳性标记部分。

9. 仪器做好准备。

10. 仪器按照用户手册中的说明进行操作。

11. 建议使用 Depletes 程序。在 B 位收集富集的 T 细胞就是阴选部分。