

## TCR $\gamma$ / $\delta$ + T细胞分选试剂盒，人(92-01-0089)

**[组分]** 2mL TCR $\gamma$ / $\delta$ + T 细胞生物素抗体混合物，人：生物素偶联的单克隆抗人抗体混合物，针对 TCR $\gamma$ / $\delta$ + T 细胞不表达的抗原。

2ml 抗生物素磁珠：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，多达 100 次分选。

**[保存形式]** TCR $\gamma$ / $\delta$ + T 细胞生物素抗体混合物保存在含有稳定剂和 0.05%叠氮钠的溶液中。

生物素磁珠保存在 0.05%叠氮钠的溶液中。

**[储存条件]** 在 2–8°C 条件下避光保存，请勿冻存。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。不建议使用含有钙离子或镁离子的缓冲液。
- 选择合适的分选柱和分选器，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。
- (可选)用于流式细胞术分析的荧光标记抗体。
- (可选)碘化丙啶溶液或 7-AAD 用于流式细胞术排除死亡细胞。

### [1.样本制备]

使用标准方法从外周血或白膜层中分离单个核细胞 (PBMC) 。

▲注：死亡细胞可能非特异性地结合到磁珠上。要去除死细胞，我们建议使用密度梯度离心法或死细胞去除试剂盒。

### [2. 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（例如，对于  $2 \times 10^7$  个总细胞，使用标示试剂体积的两倍）。

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

1. 细胞计数。

2.  $300 \times g$  离心 10min，去除上清。

3. 每  $10^7$  细胞，用 80 $\mu$ L 缓冲液重悬。

4. 每  $10^7$  细胞，用 20  $\mu$ L 生物素抗体混合物混匀。

5. (2-8) °C冰箱避光孵育 10min（如果是在冰上孵育，需要增加孵育时间；如果是常温孵育，会增加非特异结合）。

6. 每  $10^7$  细胞加入 1-2ml 缓冲液洗涤细胞， $300 \times g$  离心 10 分钟。完全吸去上清液。

7. 每  $10^7$  细胞，加入 80 $\mu$ l 缓冲液。

8. 每  $10^7$  细胞，加入 20 $\mu$ l 抗生物素磁珠。

9. 混合均匀，在冰箱(2-8°C)中孵育 15 分钟。

10. 每  $10^7$  细胞加入 1-2ml 缓冲液洗涤细胞， $300 \times g$  离心 10 分钟。完全吸去上清液。

11.加 500 $\mu$ l 缓冲液重悬细胞。

### [3. 磁性分选]

▲ 根据总细胞数和标记细胞数选择合适的分选柱和分选器。

1. 将分选柱放置在分选器的磁场中。

2. 在分选柱中加入适量缓冲液，充分湿润分选柱:

xM: 500  $\mu$ L                      xL: 3 mL

3. 将细胞悬液加到分选柱中。

4. 结合磁珠的细胞会被吸附到分选柱上，没有结合的细胞会顺着液体流下来。加适量的缓冲液，待液体全部流尽，再加入适量缓冲液，一共洗 3 次。收集总流出物。这是富集的未标记的目的细胞。

xM:  $3 \times 500 \mu$ L                      xL:  $3 \times 3$  mL