

## T细胞活化扩增试剂盒，人(92-01-0073)

**[组分]** 1 mL CD8+记忆 T 细胞生物素抗体混合物，人：针对 CD4、CD11c、CD14、CD15、CD16、CD19、CD34、CD36、CD45RA、CD56、CD57、CD61、CD123、CD141、TCR $\gamma/\delta$  和 CD235a 的生物素偶联单克隆抗体混合物。

2 mL 抗生物素磁珠：与抗生物素单克隆抗体（同种型：小鼠 IgG1）偶联的磁珠。

**[规格]** 可分选  $10^9$  总细胞数，总计 100 次分选。

**[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。
- 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]

使用标准方法从淋巴器官、非淋巴组织或外周血中制备单细胞悬浮液。

▲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. 淋巴细胞离心，300g，10min，去除上清。
3. 每  $10^7$  细胞，用 40  $\mu$ L 缓冲液重悬。
4. 每  $10^7$  细胞，用 10  $\mu$ L CD8+记忆 T 细胞生物素抗体混合物。
5. 4°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，用 80  $\mu$ L 缓冲液重悬。
8. 每  $10^7$  细胞，加入 20 $\mu$ l 抗生物素磁珠混合物。
9. 混合均匀，在冰箱(2-8°C)中孵育 15 分钟。
10. (可选)加入染色抗体，在冰箱(2-8°C)避光孵育 5 分钟。
11. 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。
- 12.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. 将 LS 分选柱中加入 3ml 缓冲液，充分湿润分选柱:
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 3ml 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。这是未标记的 CD8+记忆 T 细胞。

5. (可选)将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。将 5ml 缓冲液移液到分选柱上。通过将柱塞牢牢地推入柱中，立即将带有磁性标签的细胞冲洗出来。这部分代表磁性标记的非 CD8+T 细胞。