

CD8a (Ly-2)分选磁珠，小鼠(92-01-0365)

[组分]

小鼠 CD8a (Ly-2) 磁珠：与抗小鼠 CD8a (Ly-2) 单克隆抗体（同型：大鼠 IgG2a）偶联的磁珠。

[规格] 2 mL，可分选 2×10^9 个细胞总量。

[保存形式] 所有组分储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存，请勿冻存。有效期见试剂外标签。

[试剂和仪器要求]

- 缓冲液： 配制含有 pH7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- 分选柱和分离器。
- (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。

[步骤]

一、磁珠标记

- ▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。
- ▲ 下面给出的磁珠标记规模为 10^7 个细胞总量。当处理少于 10^7 个细胞时，使用与指示相同的体积。当处理较高的细胞数时，相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如，对于 2×10^7 总细胞，使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。

1. 细胞计数。
2. 每 10^7 个细胞总量使用 90 μL 缓冲液重悬。
3. 每 10^7 个细胞总量添加 10 μL CD8a (Ly-2)磁珠。
4. 混匀，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 分钟。
5. 进行细胞分选步骤。

▲注：磁分选的最小要求为 500 μL 。如有必要，在细胞悬液中加入缓冲液。

二、细胞分选

▲ 始终等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

xM 或 xL 分选柱进行细胞分选

1. 将分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：

xM: 500 μL

xL: 3 mL

3. 将细胞悬液转移至分选柱中。收集包含未标记细胞的流出液。
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，和第 3 步的流出液混合。

xM: $3 \times 500 \mu\text{L}$

xL: $3 \times 3 \text{ mL}$

5. 将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。
6. 加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是磁性标记的细胞。

xM: 1 mL

xL: 5 mL

7. (可选) 为了提高 CD8a+ T 细胞的纯度, 洗脱的部分可以在第二个 xM 或 xL 柱上富集。使用新的分选柱重复步骤 1 至 6 中描述的磁性分离过程。