

初始Pan T细胞分选试剂盒 II，人(92-01-0141)

[组分]

1 mL 初始 Pan T 细胞生物素抗体混合物，人：抗 HLA-DR、CD14、CD15、CD16、CD19、CD25、CD36、CD56、CD57、CD45RO、CD123、CD244 和 CD235a（血型糖蛋白 A）单克隆抗体偶联生物素的混合物。

2 mL 初始 Pan T 细胞磁珠混合物：单克隆抗 CD61 抗体（同种型：小鼠 IgG1）和抗生物素抗体（同种型：小鼠 IgG1）偶联的磁珠。

1 mL 人抗 TCR γ/δ -生物素：用于消耗 TCR γ/δ T 细胞（可选）。

[规格] 可分选 10^9 个细胞总量。

[保存形式] 所有组分均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，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[试剂和仪器要求]

- 缓冲液：配制含有 pH 7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。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。
- 分选柱和分选器
- （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（2-8℃）。

▲ 下面给出的磁珠标记规模为 10^7 个细胞总量。当处理较少细胞时，使用与指示相同的试剂体积。

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。

▲ 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 40 μL 缓冲液重悬。

▲ 注意：如果包括可选步骤 4，请将每 10^7 总细胞重悬于 30 μL 缓冲液中的细胞沉淀。

3. 每 10^7 个细胞总量添加 10 μL 初始 Pan T 细胞生物素抗体混合物。

4. （可选）每 10^7 总细胞添加 10 μL 抗 TCR γ/δ -生物素。

5. 充分混匀，2-8℃ 孵育 5 分钟。

6. 每 10^7 个细胞总量添加 30 μL 缓冲液。

7. 每 10^7 个细胞总量添加 20 μL 初始 Pan T 细胞磁珠混合物。

8. 充分混匀，2-8℃ 孵育 10 分钟。

9. 进行细胞分选步骤。

▲ 注：磁分选至少 500 μL 细胞悬液，如有必要，在细胞悬液中添加缓冲液。

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。

10. 将 xL 分选柱置于相对应的分选器中。



FOCUS ON CELL THERAPY

11. 用 3mL 缓冲液润洗分选柱。
12. 将细胞悬液转移至分选柱中。收集含有未标记的细胞流出液，代表富集的初始 Pan T 细胞。
13. 用 3mL 缓冲液清洗分选柱，收集通过的未标记细胞（代表富集的初始 Pan T 细胞），并与步骤 12 的流出物合并。
14. (可选)将分选柱从分选器中取出，加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，立即冲洗掉磁性标记的非初始 Pan T 细胞。