

CD4+记忆T细胞分选试剂盒，人(92-01-0268)

[组分] 1ml 记忆 CD4+T 细胞生物素-抗体混合物，人：偶联 CD8, CD14, CD16, CD19, CD36, CD45RA, CD56, CD123, T 细胞受体 γ/δ 和糖蛋白 A 抗体的生物素混合物。

2ml 抗生物素磁珠：与抗生物素偶联的磁珠。

[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 2×10^7 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 μL 缓冲液重悬。
4. 每 10^7 细胞，用 10 μL 生物素抗体混合物混匀。
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 30 μL 缓冲液。
7. 每 10^7 细胞，加入 20 μL 抗生物素磁珠。
8. 混合均匀，在冰箱($2-8^\circ\text{C}$)中孵育 15 分钟。
9. 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。
10. 加 500 μL 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 CD4+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 CD4+T 细胞和 naïve CD4+T 细胞。