

小鼠 CD8+细胞分选试剂盒（阳选）(91-28-0012)

[产品简介]

小鼠 CD8+细胞分选试剂盒（阳选法）适用于从小鼠脾脏细胞或其它组织的单细胞悬液中分选出 CD8+细胞。原理是利用 CD8 抗体对 CD8+细胞进行标记，然后通过磁珠对目标细胞进行捕获，再用磁珠去除 buffer 将磁珠从细胞表面解离，从而得到无磁珠标记的小鼠 CD8+细胞。分选得到的 CD8+细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

[产品信息]

组分	规格 (For 5×10^8 cell)
CD8 抗体	100 μ L
磁珠	1 mL
磁珠去除缓冲液	20 mL

[储存条件及有效期]

2 - 8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[适用范围]

本试剂盒适用于分选小鼠淋巴器官，如脾脏和淋巴结中的 CD8+细胞。

[步骤]

以分选小鼠脾脏 CD8⁺细胞为例：

1. 制备单细胞悬液：在 70 μm 细胞筛网上研磨脾脏，以预冷的 PBS 冲洗细胞筛网，收集细胞悬液于 50 mL 离心管中，500 g，离心 5 min。

2. 离心结束，弃上清，加入 5 mL 红细胞裂解液（ACK），室温裂解 5 min，再加入 20 mL PBS，500 g，离心 5 min。

注意：少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。

3. 离心完成后，弃上清，将脾细胞重悬于 PBS，细胞悬液用 70 μm 细胞筛网过滤后，计数。计数完成后，500 g，离心 5 min。

注意：细胞悬液需要用细胞筛网过滤，以除去组织和细胞团块，否则会影响后续细胞分选纯度。

4. 离心完成后，弃上清，将细胞重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1×10^8 cells/mL。

注意：分选 buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS 或者含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS，需预先通过 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

5. 将 500 μL 细胞悬液 (5×10^7 个细胞) 加入无菌流式管底部，再加入 10 μL CD8 抗体，混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意：将细胞悬液直接加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架不同也可使用离心管进行细胞分选。分选其它数量细胞时可按比例调整 CD8 抗体的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL ，加入 2 μL CD8 抗体。

6. 孵育完成后，在流式管中加入 100 μL 清洗过的磁珠，混匀后 4°C 孵育 10 min（磁珠使用前用分选 buffer 清洗：涡旋振荡重悬磁珠，吸取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入 1 mL 分选 buffer，10000 g 离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 buffer 重复洗涤磁珠 1 次后用与原来相同

体积的分选 buffer 重悬磁珠。如吸取 20 μL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μL 分选 buffer 进行重悬）。

注意：分选其它数量细胞时可则按比例调整磁珠的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞，使用 20 μL 磁珠。

7. 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分选 buffer，用移液器吹打 5 次混匀（避免上下颠倒混匀）。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

8. 吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下，迅速加入 2 mL 分选 buffer 重悬磁珠，用移液器反复吹打分散磁珠。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

9. 重复步骤 8 两次（清洗步骤可以保证获得高纯度的目的细胞）。

10. 磁吸结束后，吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下，迅速加入 1 mL 磁珠去除缓冲液重悬磁珠，避免磁珠干燥，将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 分钟。

注意：分选其它数量细胞时可则按比例调整磁珠去除缓冲液的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞，使用 200 μL 磁珠去除缓冲液洗脱细胞。

11. 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，补加分选 buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，置于磁力架上，静置 5 分钟。

12. 将上清液转移到一个 15 mL 离心管中备用（上清中含有目的细胞，不要丢弃）。迅速用 1 mL 磁珠去除缓冲液重悬磁珠，避免磁珠干燥，将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 分钟。

13. 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，补加分选 buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，置于磁力架上，静置 5 分钟。



14. 将上清液与第一次洗脱后的细胞上清液混合，500 g，离心 5 min，弃上清，即可收集到无磁珠标记的 CD8⁺细胞。
15. 根据实验需要洗涤细胞后，将细胞重悬于所需缓冲液或培养基中，可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

[注意事项]

1. 磁珠和抗体混合液使用和保存过程中应避免冷冻；
2. 建议选用低吸附移液器吸头和离心管，避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗；
3. 本产品需与磁力架配套使用；
4. 本产品仅供研究使用。