

小鼠 CD8⁺ T细胞分选试剂盒 (阴选)

Mouse CD8⁺ T Cell Isolation Kit (negative selection)

产品描述

TargetMol的小鼠 CD8⁺ T细胞分选试剂盒 (阴选) 提供超顺磁性微珠, 采用阴性分选法, 从小鼠脾脏细胞或其他组织的单细胞悬液中分离出 CD8⁺ T 细胞。原理是选用不同的生物素 (biotin) 标记单克隆抗体对非目的细胞 (非 CD8⁺ T 细胞) 进行标记, 而后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠对非目标细胞进行清除, 从而达到小鼠 CD8⁺ T 细胞分选的目的。

细胞分选的产品推荐

1. 小鼠细胞

| | 脾脏 | 淋巴结 | 外周血 | 骨髓 | 肿瘤组织 |
|----------------------|------------------------|-----|-------|-------|-------|
| CD3 ⁺ T细胞 | C0061 | | / | / | / |
| CD4 ⁺ 细胞 | C0062 (首选), C0067 (可选) | | C0067 | / | C0067 |
| CD8 ⁺ 细胞 | C0063 (首选), C0068 (可选) | | C0068 | / | C0068 |
| 中性粒细胞 | C0064 | / | C0064 | C0064 | / |

2. 人源细胞

| | 外周血 | 脐带血 |
|------------------------|-------|-------|
| CD3 ⁺ T细胞 | C0065 | / |
| CD34 ⁺ 细胞富集 | C0066 | C0066 |

产品特点

- 纯度高: 分选细胞的纯度高, 可达95%以上。
- 易操作: 无需使用分离柱, 通过磁力架即可实现目标细胞分离。
- 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活, 无抗体和磁珠标记。
- 速度快: 最快只需15 min即可获得目标细胞。

产品应用

- 适用于从小鼠脾脏和淋巴结及其混合样本中分选出CD8⁺ T细胞。

产品组成

| 产品编号 | 产品名称 | 产品包装 (for 5 × 10 ⁸ cells) | 产品包装 (for 1 × 10 ⁹ cells) |
|---------|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| C0063-1 | Biotin-Antibody Mix | 100 μL | 200 μL |
| C0063-2 | Streptavidin Magnetic Beads | 1 mL | 2 mL |

操作说明

以分选小鼠脾脏中的CD8⁺ T细胞为例:

1. 制备单细胞悬液: 将脾脏放置在70 μm的细胞筛网上研磨, 并用预冷的PBS冲洗筛网, 将细胞悬液收集至50 mL离心管中, 500 g离心5 min。
2. 离心结束后, 弃去上清液, 加入5 mL红细胞裂解液 (ACK) 并在室温下裂解5 min。随后加入20 mL PBS, 500 g离心5 min。
注: 红细胞裂解的时间和用量可根据所用裂解液进行调整, 少量红细胞的残留对后续分选和细胞纯度影响不大。
3. 离心结束后, 弃去上清液, 将脾细胞重悬于PBS中, 并用70 μm的细胞筛网过滤。细胞计数完成后, 再次以500 g离心5 min。
注: 为避免组织碎片和细胞团块影响后续分选的纯度, 细胞悬液需经过细胞筛网过滤。
4. 离心结束后, 弃去上清液, 将细胞重悬于分选缓冲液中, 并调整细胞浓度至 1×10^8 个细胞/mL。
注: 分选缓冲液推荐配方: PBS, 含有2 mM EDTA和2% FBS; 或PBS, 2 mM EDTA和0.5% BSA。缓冲液需预先经0.22 μm滤膜过滤灭菌。
5. 将100 μL的细胞悬液 (含 1×10^7 个细胞) 加入无菌流式管底部, 再加入2 μL Biotin-Antibody Mix, 混匀后在4°C下孵育10 min。
注: 将细胞加入流式管底部时, 避免沿管壁添加。若分选更多细胞, Biotin-Antibody Mix的用量需按比例增加。根据磁力架的不同, 也可使用离心管进行细胞分选。
6. 磁珠预处理: 涡旋振荡重悬磁珠, 将所需量的磁珠移至1.5 mL离心管中, 加入1 mL分选缓冲液, 10000 g离心1 min, 弃去上清。重复以上洗涤步骤一次。加入与原体积相同的分选缓冲液重悬磁珠。若使用20 μL磁珠进行清洗, 则清洗后用20 μL分选缓冲液重悬。
7. 细胞孵育结束后, 在流式管中加入20 μL经过预处理的Streptavidin Magnetic Beads, 混合均匀, 4°C下孵育10 min。
注: 若分选的细胞数量较多, Streptavidin Magnetic Beads的用量需按比例增加。例如, 分选 5×10^7 个细胞时, 在500 μL细胞悬液中加入10 μL Biotin-Antibody Mix和100 μL Streptavidin Magnetic Beads。若分选的细胞少于 1×10^7 个, 则应将细胞悬液体积补至100 μL, 并加入2 μL Biotin-Antibody Mix和20 μL Streptavidin Magnetic Beads。
8. 孵育结束后, 在流式管中加入2.5 mL分选缓冲液, 用移液器轻轻吹打混匀5次, 避免剧烈振荡或上下颠倒混匀。
9. 将装有细胞的流式管置于磁力架上静置5 min。
10. 将含有纯化CD8⁺ T细胞的细胞悬液轻轻倒入无菌离心管中, 倒出过程中流式管保持在磁力架上。500 g离心5 min, 弃去上清, 收集细胞。
11. 根据实验要求洗涤细胞后, 将其重悬于所需的缓冲液或培养基中, 便可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

保存条件

4 °C, 2 年。

注意事项

1. 避免冷冻试剂盒各组分。磁珠应保存在储存溶液中, 防止干燥。
2. 在从磁珠保存管中取出磁珠之前, 应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
3. 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管, 以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
4. 不适用于分选naive CD8⁺ T细胞。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

阴选法和阳选法的比较

| 磁性细胞分选技术 | 阴选法 | 阳选法 |
|-------------|--|----------|
| 样本类型 | 多样 | 多样 |
| 捕获方式 | 磁珠结合非目的细胞 | 磁珠结合目的细胞 |
| 是否需要解离 | 不需要 | 需要 |
| 目的细胞是否有抗体标记 | 无 | 有 |
| 细胞纯度 | >97% | >95% |
| 细胞活性 | 高 | 高 |
| 特点 | 目的细胞纯度高; 细胞无抗体、无磁珠残留; 细胞活性更好, 适用于下游功能实验。 | 样本范围更广泛 |

