

MHC多聚体 (Epimer) Data Sheet

T细胞免疫及应答和抗体一样，同为机体两大防御体制之一。T细胞除了直接参与免疫系统的识别、活化及应答之外，还通过控制抗体产生和免疫细胞增殖，达到调节正常免疫功能的作用，因而在抗病毒感染及癌变过程中发挥比抗体更为重要的作用。然而科学家们一直苦于缺乏良好的研究工具。一直到近年John Altman发明了MHC四聚体，科学家们才能比较容易的研究，评估机体T细胞免疫状态，分离纯化特异性T-细胞。

抗原特异性T-淋巴细胞分为CD4和CD8两大类。细胞毒T-细胞 (CTL) 主要是CD8表达T-细胞。该细胞是通过其细胞表面表达的T细胞受体(TCR)与抗原加工细胞表面的MHC/肽复合物结合而识别抗原，继而活化。MHC/肽复合物的这一结合TCR功能，并且通过多聚体化使得其结合TCR的亲和力足够大，因而使得它可用着检测抗原特异性T-细胞。Epimer就是表源公司自主开发生产的荧光标记的MHC/肽复合物多聚体。和其他商品化的MHC/肽多聚体(四聚体，五聚体等)一样，是检测，分离T-细胞的工具。

(一) 应用

1. 定量检测外周血及组织中抗原特异性CTL的比率，并对其进行表型及功能分析

外周血及组织经过荧光标记的MHC/peptide多聚体染色，在细胞流式仪上分析，我们可以准确检测外周血及组织中抗原特异性CTL的数量。如用T-细胞亚型抗体，抗细胞因子抗体，抗T-细胞表型抗体共染特异性T-细胞，我们还将获得更多有关此类细胞的特性。

2. 分离T-细胞，过继性免疫治疗

将MHC/肽复合物单体 (Epimonomer) 结合在磁珠上，此试剂可将特异性的T-细胞分选出来，在体外扩增，用于过继免疫治疗。

(二) 实验操作

1. 定量检测外周血及组织中抗原特异性CTL的比率

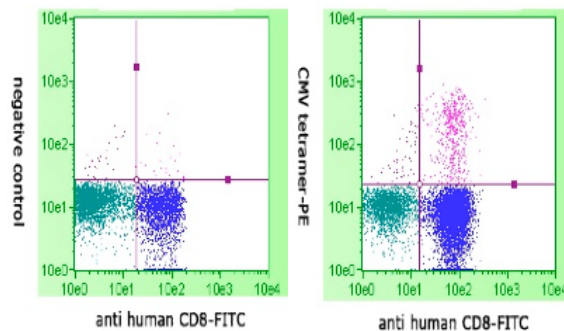
试剂 带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)
欲检测细胞 / 全血
抗-CD8-FITC / 其它抗体
FACs洗涤液 (PBS PH7.3+0.2mg/mlBSA) 新鲜配制。

- 操作：
1. 多至 10^6 左右细胞，离心细胞500xg 3分钟，弃上清，细胞沉淀重悬于100ul FACs洗涤液。
 2. 在细胞悬液中加入5 μ l 带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)，室温避光反应15分钟。置细胞于冰上，孵育1分钟。加入抗-CD8-FITC / 其它抗体。在冰上继续避光反应20分钟。
 3. FACs洗涤液洗细胞1次，500xg 3分钟，细胞沉淀重悬于适量FACs洗涤液中。
 4. 细胞流式仪分析。

(全血)

1. 全血100—200 μ l，加入5 μ l带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)，室温避光反应15分钟。裂解红细胞，置细胞于冰上，孵育1分钟。加入抗-CD8-FITC / 其它抗体。继续避光反应20分钟。
2. 其它步骤如以上所述步骤3, 4进行。

实例：



HLA-A2阳性PBMC经特异性CMV表位肽刺激10天后，用Flu/Epimer作为阴性对照与CD8-FITC共染细胞（左图）。用CMV/Epimer-PE与CD8-FITC共染细胞（右图），流式细胞仪分析。

2. 分离T-细胞，过继性免疫治疗

试剂 未经荧光标记的MHC/肽复合物单体 (Epimonomer)

欲分离细胞

磁珠-Avidin

磁棒

R1洗涤液；RPMI1640+1%FCS.

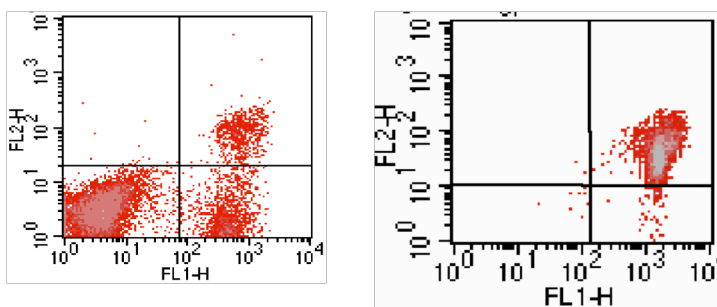
滋养细胞培养液；新鲜分离至少三个同种异体PBMCs，辐照，洗涤。细胞重悬于T细胞培养基 (RPMI1640+10% FBS+青链酶素) 调细胞密度 2×10^6 /ml。加入青链酶素与 20 unit/ml IL2.

R10/IL2： RPMI1640+10% FBS+青链酶素+20 unit/ml IL2.

操作：

1. 小EP管中加入 10 μ l Epimonomer, 再加入10 μ l 磁珠-avidin (4×10^6 磁珠), 置于冰上孵育30分钟,, 在其间每隔5分钟轻弹EP管壁, 混匀磁珠。加入1ml R1洗涤液, 在磁棒的帮助下, 洗去未结合的Epimonomer。洗涤磁珠三次。将磁珠重悬于适量R1中 (100 μ l)。

2. 用R1 5ml洗涤细胞一次，将细胞重悬于100 μ l R1中。估计欲分离特异性T-细胞数，按每个欲分离细胞：磁珠=1：10的比例，加入磁珠。置于冰上孵育40分钟，其间每隔5分钟轻弹细胞管壁，混匀细胞与磁珠。加入R1洗涤液1ml，在磁棒的帮助下，洗去未结合细胞，洗涤三次。
3. 将与磁珠结合的细胞悬于滋养细胞培养液中，按‘磁珠结合的细胞：滋养细胞=1：100’左右，置于培养皿中培养，培养期间观察细胞状态和密度，一旦过密，适时增加或更换R10/IL2培养基，维持其正常细胞浓度1—2 $\times 10^6$ / ml 。10天后用流式细胞仪分析



实例

HLA-A2 阳性PBMC经特异性CMV表位肽刺激10天，T-细胞被抗CD8-FITC与CMV/Epimer (Cat. TCMV01)共染色，细胞流式仪分析（左图）。CMV特异性T细胞被Epimonomer单体纯化，分离，并与滋养细胞共培养10天。用抗CD8-FITC和CMV/Epimer 共染色，流式细胞仪分析（右图）。

（三）. 试剂盒组成：

品名	规格
Epimer	20 T
Anti-human CD8-FITC	20T

（四）. 储存

4 $^{\circ}$ C保存，保质期1年。

北京表源生物技术有限公司
 地址：北京市朝阳区大屯路科学园南里西奥中心B座22层
 邮编：100101
 电话：010-64861692, 13910899152,
 网址：www.epigenbiotec.com
 Email: epigen.sale@gmail.com