用MHC单聚体（Epimonomer)分离T-细胞

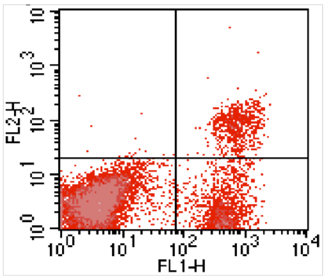
试剂：

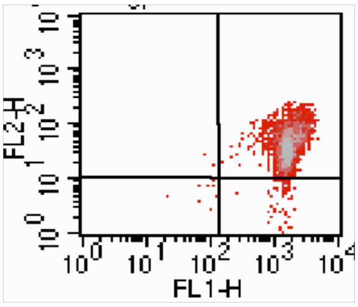
未经荧光标记的MHC/肽复合物单体（Epimonomer）
欲分离细胞
磁珠－Avidin
磁棒
R1洗涤液；RPMI1640+1%FCS.
滋养细胞培养液；新鲜分离至少三个同种异体PBMCs，辐照，洗涤。 细胞重悬于T细胞培养基（RPMI1640+10% FBS＋青链酶素）调整细胞密度至2x10^{6} / ml。加入青链酶素与 20 unit/ml IL2.
R10/IL2： RPMI1640+10% FBS＋青链酶素＋20 unit/ml IL2.

操作：

1. 小EP管中加入 10μlEpimonomer，再加入10 μl磁珠－avidin （4x 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，在磁棒的帮助小， 洗去未结合的Epimonomer。洗涤磁珠三次。将磁珠重悬于适量R1中（100μl ）。
2. 用R1 5ml洗涤细胞一次，将细胞重悬于100μl 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—2x10^{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）。

版权所有：北京表源生物技术有限公司