

## 单核细胞分选试剂盒，人(92-01-0134)

### [组分]

1 mL FcR 阻断剂：人 Ig。

1 mL 人 Pan 单核细胞生物素抗体混合物：针对在人单核细胞上未表达抗原的生物素抗体混合物。

2 mL 抗生物素磁珠：与抗生物素抗体偶联的磁珠（同种型：小鼠 IgG1）

[规格] 可分选  $10^9$  个细胞总量。

[保存形式] 所有组分均储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

### [试剂和仪器要求]

- 缓冲液：配制含有 pH 7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- 分选柱和分离器。
- (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。

### [步骤]

#### 一、磁珠标记

- ▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液（2-8°C）。

▲ 下面给出的磁珠标记规模为  $10^7$  个细胞总量。当处理少于  $10^7$  个细胞时，使用与指示相同的试剂体积。当处理较高的细胞数时，相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如，对于  $2 \times 10^7$  总细胞，使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。

1. 细胞计数。
2. 每  $10^7$  个细胞总量使用 30  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
3. 每  $10^7$  个细胞总量添加 10  $\mu\text{L}$  FcR 阻断剂。
4. 每  $10^7$  个细胞总量添加 10  $\mu\text{L}$  生物素抗体混合物。
5. 混匀，2-8 $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 分钟。
6. 每  $10^7$  个细胞总量添加 30  $\mu\text{L}$  缓冲液。
7. 每  $10^7$  个细胞加入 20  $\mu\text{L}$  抗生物素磁珠。
8. 混匀，2-8 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 分钟。
9. 进行细胞分选步骤。

▲ 注：磁分选最少需要 500  $\mu\text{L}$ 。如有必要，在细胞悬液中加入缓冲液。

## 二、细胞分选

▲ 始终等到分选柱储液器空后再进行下一步操作。

10. 将分选柱置于相对应的分选器中。
11. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：

xM: 500  $\mu\text{L}$

xL: 3 mL

12. 将细胞悬液转移至分选柱中，收集流出的未标记细胞，代表富集的单核细胞。

13. 用适当体积的缓冲液冲洗分选柱。收集流下来的未标记的细胞与第 12 步的收集物放在一起，代表富集的单核细胞。

xM: 3×500 μL

xL: 3×3 mL

14. (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。将适量的缓冲液加入分选柱，将柱塞用力推下，立即冲洗出磁性标记的非单核细胞。

xM: 1 mL

xL: 5 mL