

CD140a (PDGFR α) 分选磁珠试剂盒，小鼠(92-01-0304)

[组分]

1 mL CD140a (PDGFR α) 磁珠, 小鼠: 与单克隆 CD140a (PDGFR α) 抗体偶联的磁珠(同型: 大鼠 IgG2b)。

1 mL FcR 阻断试剂, 小鼠

[规格] 可分选 10^9 个细胞总量, 多达 100 次分离。

[保存形式] 所有试剂储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] $2 - 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[分选原理]

首先, 用 FcR 阻断试剂阻断小鼠 Fc 受体。然后, 用 CD140a (PDGFR α) 磁珠对 CD140a (PDGFR α)+细胞进行磁性标记。细胞悬浮液被装载到分选柱上, 该分选柱被放置分选器的磁场中。磁性标记的 CD140a (PDGFR α)+细胞保留在柱内, 未标记的细胞顺着分选柱流出。将分选柱从磁场中移除后, 磁保留的 CD140a (PDGFR α)+细胞可以作为阳选的细胞部分被洗脱。为了提高纯度, 含有 CD140a (PDGFR α)+细胞的阳选部分可以在第二个分选柱上分离。

[背景信息]

CD140a (PDGFR α) 磁珠 (PDGFR α : 血小板衍生生长因子受体 α) 是根据 CD140a (PDGFR α) 抗原的表达而开发的, 用于分离小鼠细胞。据报道, CD140a (PDGFR α) 在胚胎组织、各种恶性肿瘤和胚胎

干细胞衍生的心肌细胞中广泛表达。此外，CD140a (PDGFR α) 在少突胶质细胞前体细胞中特异性表达，这些细胞分化为髓样少突胶质细胞。

CD140a (PDGFR α) 磁珠经特别优化，可根据 CD140a (PDGFR α) 的表达分离少突胶质祖细胞 (OPC)。这种分离方法特别在从出生后第 8 天 (P8) 以下的小鼠脑组织中分离出来的 CD1 小鼠脑组织上进行了测试。原则上，也可以从年龄较大的小鼠身上分离细胞，但由于组织解离后 CD140a (PDGFR α) 阳性细胞的频率较低，因此阳性部分的纯度可能较低。

为获得最佳结果，建议在细胞分离前使用神经组织解离试剂盒 (P)。

[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) 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。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。
- ▲ 注： BSA 可以用其他蛋白质代替，例如小鼠血清白蛋白、小鼠血清或胎牛血清。
- 神经组织解离试剂盒(P)
- ▲ 注:如果其他感兴趣的细胞表面表位对木瓜蛋白酶敏感，可以使用神经组织解离试剂盒(T)。
- (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。
- 分选柱和分选器： CD140a (PDGFR α)阳性细胞可以用 xM、xL 分选柱富集。
- (可选) 荧光偶联的抗体用于流式分析。
- (可选)人 PDGF-AA，科研级，小鼠 FGF-2，科研级
- (可选) PI 或 7-AAD 可以用于流式分析中排除死细胞。
- (可选) 组织解离器，全自动组织解离器。

[步骤]

一、样本准备

对于神经组织单细胞悬浮液的制备，请参考神经组织解离试剂盒(P)的说明书，该试剂盒可与组织解离器结合使用。

▲ 注:如果其他感兴趣的细胞表面表位对木瓜蛋白酶敏感，可以使用神经组织解离试剂盒(T)。

二、磁珠标记

▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。

▲ 下面给出的磁珠标记规模为 10^7 个细胞总量。为了获得最佳性能，至少使用 5×10^6 个细胞数。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 2×10^7 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。将细胞通过 $70 \mu\text{m}$ 尼龙网，去除可能堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

▲ 在冰上工作可能需要增加孵育时间。较高的温度和/或较长的孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

1. 细胞计数。
2. $300 \times g$ 离心 10 分钟。去除上清。
3. 每 10^7 个细胞总量使用 $80 \mu\text{L}$ 缓冲液重悬。
4. 每 10^7 个细胞总量添加 $10 \mu\text{L}$ FcR 阻断剂。
5. 混匀，不要涡旋。2–8 °C 孵育 10 分钟。

7. (可选)为了提高 CD140a (PDGFR α)+细胞的纯度, 洗脱的部分可以在第二个 xM 或 xL 柱上富集。

用新的分选柱重复步骤 1 至 6 中描述的磁分选过程。

▲ 注: 分离后的柱上细胞如需直接入培养, 需用细胞培养基洗脱, 否则照例用缓冲液洗脱。

▲ 注: 尽量减少 PBS/BSA 缓冲液中细胞的处理时间。