

## CD19分选磁珠，小鼠(92-01-0043)

### [组分]

小鼠 CD19 磁珠：与抗小鼠 CD19 单克隆抗体（同种型：大鼠 IgG2a）偶联的磁珠。

[规格] 2 mL，可分选  $2 \times 10^9$  个细胞总量。

[保存形式] 所有组分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 pH7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 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。
- 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，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。当处理少于  $10^7$  个细胞时，使用与指示相同的体积。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 90  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
3. 每  $10^7$  个细胞总量添加 10  $\mu\text{L}$  CD19 磁珠。
4. 混匀，2-8  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 分钟。
5. 进行细胞分选步骤。

▲ 注:磁分选的最小要求为 500  $\mu\text{L}$ 。如有必要，在细胞悬液中加入缓冲液。

## 二、细胞分选

▲ 一定要等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

### xL 分选柱进行细胞分选

1. 将分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用 3 mL 的缓冲液润洗分选柱：
3. 将细胞悬液转移至分选柱中。收集包含未标记细胞的流出液，这是阴选部分。
4. 加 3 mL 的缓冲液洗脱，待液体全部流尽，再加入适量缓冲液，一共洗 3 次。收集总流出物，这是阴选部分，和第三步流出物混合。
5. 将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。加入 5 mL 的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是 CD19 阳性细胞。



## FOCUS ON CELL THERAPY

---

6. (可选) 为了增加 CD19<sup>+</sup>细胞的纯度，洗脱的部分可以在第二个 xL 柱上富集。使用新的分选柱重复步骤 1 至 5 中描述的磁分离过程。