

## 直接谱系细胞去除试剂盒，小鼠(92-01-0177)

### [组分]

1 mL 直接谱系细胞去除混合物，小鼠：与抗 CD5，CD11b，CD45R(B220)，抗 Gr-1(Ly-6G/C)，7-4 和 Ter-119 的单抗结合的磁珠。

[规格] 可分选  $10^9$  个细胞总量。

[保存形式] 直接谱系细胞去除混合物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，请勿冻存。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。使用前对缓冲液进行脱气，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- 分选柱和分选器。
- (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  $2 \times 10^7$  个细胞总量。请勿使用少于  $2 \times 10^7$  个细胞，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。

▲ 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  $2 \times 10^7$  个细胞总量使用 80  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
3. 每  $2 \times 10^7$  个总细胞加入 20  $\mu\text{L}$  直接谱系细胞去除混合物。
4. 混合均匀，在 2 - 8°C 下孵育 10 分钟。
5. 继续后续的细胞分选。

▲ 注：磁分选至少需要 500  $\mu\text{L}$ 。如有必要，向细胞悬液中添加缓冲液。

## 二、细胞分选

▲ 始终等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

1. 将 xL 分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用 3mL 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，代表富集的谱系阴性细胞。
4. 结合磁珠的细胞会被吸附到分选柱上，没有结合的细胞会顺着液体流下来。加 3mL 缓冲液，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，和第三步流出物混合，这是谱系阴性细胞。
5. （可选）从分选器中取出分选柱并将其放置在合适的收集管上，将 5mL 缓冲液移至分选柱上，将柱塞用力推入柱中，立即冲洗磁性保留的细胞。这部分代表磁性标记谱系阳性细胞。