

## Pan B 细胞分离试剂盒，人(92-01-0349)

### [组分]

1 mL 人 Pan B 细胞生物素抗体混合物：针对 CD2、CD3、CD4、CD14、CD15、CD16、CD34、CD56、CD61、CD235a（糖蛋白 A）和 FcεR1a 的生物素结合单克隆抗体的混合物。

2 mL 抗生物素磁珠：与单克隆抗生物素抗体（同种型：小鼠 IgG1）结合的磁珠。

[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]  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  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 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，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。

▲ 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 40  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
3. 每  $10^7$  细胞总量加入 10  $\mu\text{L}$  生物素-抗体混合物。
4. 混匀并在冰箱中孵育 5 分钟 (2-8  $^{\circ}\text{C}$ ) 。
5. 每  $10^7$  个细胞总量使用 30  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
6. 每  $10^7$  个细胞总量添加 20  $\mu\text{L}$  抗生物素磁珠。
7. 混匀，2-8  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 分钟。
8. 进行细胞分选步骤。

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

## 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。

### xM 或 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. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：

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

xL: 3 mL

3. 将细胞悬液转移至分选柱中。

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。加适量的缓冲液，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，这是未标记的细胞。

xM: 3×500 μL

xL: 3×3 mL

5. 将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。

6. (可选) 加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是磁珠标记的细胞。

xM: 1 mL

xL: 5 mL