

人中性粒细胞分选试剂盒

产品描述:

人中性粒细胞分选试剂盒是通过阴性分选法从新鲜外周血中分离出中性粒细胞。原理是选用生物素 (biotin) 标记的单克隆抗体对非目标细胞进行标记, 而后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠对非目标细胞进行清除, 从而达到人中性粒细胞分选的目的。分选过程需要用到磁力架。

规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-704-100 规格 (For 1×10^9 cells)	Cat.No.:RG11-704-50 规格 (For 5×10^8 cells)
Biotin-Antibody Mix	200 μ L	100 μ L
Streptavidin-Beads	2 mL	1 mL

储存条件: 2-8°C 保存, 不可冷冻, 有效期见试管标签。

适用范围: 本试剂盒适用于分选新鲜人外周血中性粒细胞, 分选之前需去除红细胞。

设备和试剂要求:

缓冲液: FACS Buffer (不含钙镁离子的 PBS+2 mM EDTA+2% FBS)

无菌红细胞裂解液、计数液

耗材: 细胞筛网、离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

样本制备:

1. 取新鲜抗凝外周血于离心管中, 加入红细胞裂解液, 进行红细胞裂解。
2. 红细胞裂解完成后, 用 PBS 重悬细胞沉淀, 经过细胞筛网过滤后 400 g, 离心 5 min。
3. 弃上清, 加入 PBS 重复洗涤一次, 以充分去除裂解液及细胞碎片。
4. 洗涤完成后, 弃上清, 将细胞重悬于分选 Buffer 中, 调整细胞密度为 1×10^8 cells/mL。

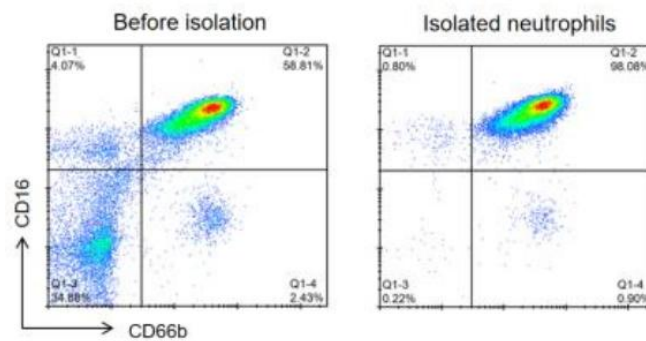
温馨提示:

1. 红细胞裂解可根据所用裂解液的不同调整用量及时间。一般建议加入相当于外周血体积 3-5 倍的红细胞裂解液, 在 4°C 或冰上进行裂解。如一次裂解不充分, 可进行第二次裂解。少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。
2. 建议选用低吸附移液器吸头和离心管, 避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗。
3. 5 mL 流式管分选范围为 1×10^7 cells 至 2×10^8 cells, 此范围内分选效果最佳。
4. 确保每一步无菌操作, 谨防污染。

操作步骤:

步骤	说明	剂量和时间
1	将制备好的单细胞悬液转移至 5 mL 流式管	1×10^8 cells/mL
2	加入 Biotin-Antibody Mix 至细胞悬液	20 μ L/mL
3	轻轻吹打混匀抗体和细胞, 孵育	室温, 孵育 10 min
4	涡旋震荡磁珠 (Streptavidin-Beads) 30s 后, 取步骤 5 中需要用的磁珠用量至 1.5 mL 离心管, 加入 1 mL Buffer, 离心清洗磁珠, 洗两次	10000 g, 离心 1 min
5	加入清洗过的 Streptavidin-Beads 混悬液至细胞悬液	200 μ L/mL
6	轻轻吹打混匀磁珠和细胞, 孵育	室温, 孵育 10 min
7	加入 Buffer 到样品中定容至指定体积	定容至 2.5 mL
8	吹打混匀后, 将样品 (不带盖) 置于磁力架上, 使磁珠吸附	室温静置 5 分钟
9	手持磁力架, 将细胞悬液轻柔倒入无菌离心管中	此细胞悬液中即为纯化的人中性粒细胞

分选效果:



从人外周血中分选中性粒细胞, 分选前后的细胞用 Alexa Fluor 647 标记的 anti-human CD66b 抗体 (克隆号 6/40c) 和 FITC 标记的 anti-human CD16 抗体 (克隆号 3G8) 标记后进行流式细胞仪分析, 分选前后的中性粒细胞纯度分别为 58.81%和 98.08%。