

# 人 CD34<sup>+</sup>细胞富集试剂盒

## 产品描述:

人 CD34<sup>+</sup>细胞富集试剂盒是通过阴性分选法从人细胞样本中富集 CD34<sup>+</sup>细胞。原理是利用生物素 (biotin) 标记的单克隆抗体对非目标细胞 (非 CD34<sup>+</sup>细胞) 进行标记, 然后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠对非目标细胞进行清除, 从而达到富集 CD34<sup>+</sup>细胞的目的。分选过程需要用到磁力架。

## 规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-706-100 规格 (For $1 \times 10^9$ cells)	Cat.No.:RG11-706-50 规格 (For $5 \times 10^8$ cells)
Biotin-Antibody Mix	200 $\mu$ L	100 $\mu$ 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:** 本试剂盒适用于从人脐带血单个核细胞 (CBMC) 或外周血单个核细胞 (PBMC) 中富集 CD34<sup>+</sup>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)

Ficoll 细胞分离液、无菌红细胞裂解液、计数液

耗材: 离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

## 样本制备:

制备人 CBMC 或 PBMC: 利用 Ficoll 密度梯度离心法从人脐带血或外周血中分离单个核细胞, 以 PBS 洗涤细胞, 离心后将 CBMC 或 PBMC 重悬于分选 Buffer 中, 调整细胞密度为  $1 \times 10^8$  cells/mL。

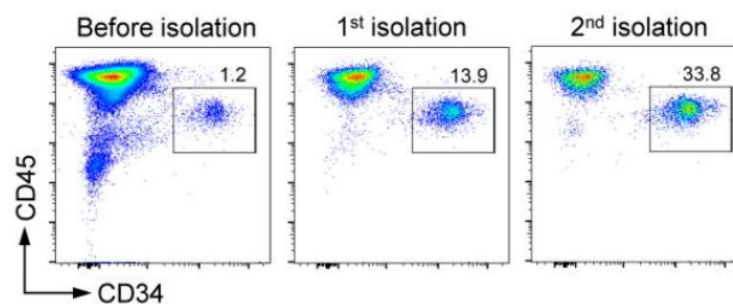
## 温馨提示:

1. 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;
2. 如果单次分选少于  $1 \times 10^7$  cells, 则将细胞悬液体积补至 100  $\mu$ L, 加入 2  $\mu$ L Biotin-Antibody Mix 和 20  $\mu$ L Streptavidin-Beads;
3. 5 mL 流式管分选范围为  $1 \times 10^7$  cells 至  $2 \times 10^8$  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	$1 \times 10^8$ cells/mL
2	加入 Biotin-Antibody Mix 至细胞悬液	20 $\mu$ L/mL
3	轻轻吹打混匀抗体和细胞, 孵育	4°C, 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 $\mu$ L/mL
6	轻轻吹打混匀磁珠和细胞, 孵育	4°C, 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	此细胞悬液中即为富集的 CD34 <sup>+</sup> T 细胞
10	离心弃上清, 重复步骤 4-9 进行二次纯化	可选

## 分选效果:



从人 CBMC 中富集 CD34<sup>+</sup>细胞, 分选前后的细胞用 FITC anti-human CD45 (克隆号 HI30) 和 PE anti-human CD34 抗体 (克隆号 581) 标记后进行流式细胞仪分析。分选前 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 1.2%, 第一次分选后 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 13.9%, 第二次分选 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 33.8%。