

人NK细胞分选试剂盒

产品描述:

人NK细胞分选试剂盒通过免疫磁珠阴选，在短至15分钟内从新鲜或冻存的人外周血单核细胞（PBMCs）或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高度纯化的NK细胞。该试剂盒通过靶向细胞表面标志物的抗体去除非NK细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并使用磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入新管中即可。分选后的细胞可立即用于下游应用，如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

产品信息:

组分名称	Cat.No.:RG11-707-100 规格 (For 1×10^9 cells)
Biotin-Antibody Mix	1 mL
Streptavidin-Beads	2 mL

储存条件: 2-8°C保存，不可冷冻，有效期见试管标签。

设备和试剂要求:

分选缓冲液: PBS, pH 7.2, 0.5%BSA (或2%FBS), 2 mM EDTA

计数液

耗材: 37 μ m无菌细胞滤网、离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

样本制备:

1. 外周血样本

通过使用密度梯度离心液离心，从全血中制备外周血单个核细胞（PBMC）悬液。如果使用冻存的PBMC，在室温（15-25°C）下用终浓度100 μ g/mL的DNase I溶液孵育细胞至少15 min，再进行标记和分选。使用37 μ m的细胞过滤器过滤细胞悬液去除聚团，以获得最佳结果。制备完成后，将细胞以 5×10^7 cells/mL的浓度重悬于缓冲液中。

2. 白细胞单采术样本

加入等体积的分选缓冲液，在室温（15-25°C）下以120 \times g离心10 min，清洗外周血白细胞单采样本，重复清洗一遍。如果需要裂解红细胞（RBC），请在第一次清洗步骤前使用裂红液进行裂解。去除上清液，并将细胞以 5×10^7 cells/mL的浓度重悬于分选缓冲液中。

注意事项:

1. 建议选用低吸液器吸头和离心管，避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗。
2. 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。
3. 确保每一步无菌操作，谨防污染。
4. 本产品仅适用于体外细胞培养，不可直接用于临床治疗。

操作流程:

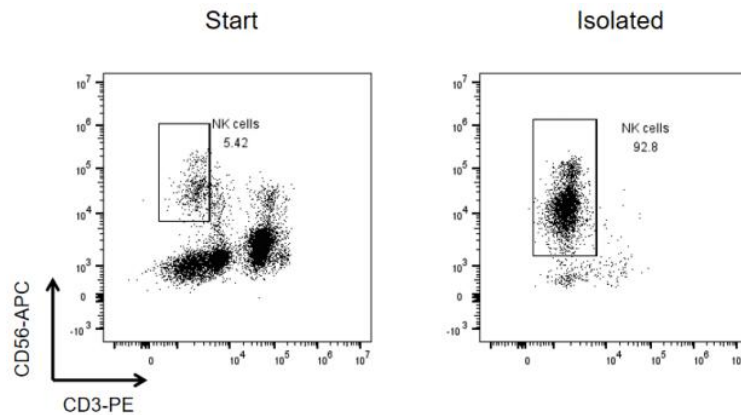
1. 取 1×10^7 细胞加入到5 mL流式管中。
2. 加入10 μ L Biotin-Antibody Mix，混匀后室温孵育5 min。
3. 加入20 μ L Streptavidin-Beads，混匀后室温孵育5 min，磁珠使用前应充分混匀。
4. 加入2 mL分选缓冲液，使用移液器吹打混匀，置于磁极中，室温静置3 min。
5. 拿起磁力架，以一个连续的动作将磁力架和试管倒置，将富集的细胞悬液倒入新试管中。倒出的细胞即为目的细胞。

注: ▲以上步骤给出的试剂推荐用量可处理 1×10^7 个总细胞，若细胞数量少于 1×10^7 ，则按 1×10^7 个细胞加入试剂；若细胞数量多于 1×10^7 ，应按比例相应增加试剂用量。

▲尽量快速操作，保持细胞冷却，并使用预冷溶液，以减少非特异性细胞标记。

▲磁珠与细胞孵育时需要温和地彻底混匀，以提高分选效率。

分选效果:



使用人NK细胞分选试剂盒从PBMCs中分离NK细胞。用CD56-APC对分离出的细胞进行荧光染色，并通过流式细胞术进行分析，分选前后的NK细胞纯度分别为5.42%和92.8%。