

小鼠中性粒细胞分选试剂盒

产品描述:

小鼠中性粒细胞分选试剂盒是通过阴性分选法从小鼠骨髓或其它组织样本的单细胞悬液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 (非 CD11b⁺Ly-6G⁺细胞) 进行标记, 而后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠去除非目标细胞, 从而达到小鼠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.:RG11-904-100 规格 (For 1×10^9 cells)	Cat.No.:RG11-904-50 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小鼠骨髓、外周血或脾脏中性粒细胞。

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: 70 μ m 无菌尼龙滤网、离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

样本制备:

1. 获取小鼠骨髓、脾脏或外周血细胞于离心管中, 进行红细胞裂解。
2. 裂解完成后, 分选 Buffer 重悬细胞, 将细胞悬液用 70 μ m 细胞筛网过滤, 500 g, 离心 5 min。
3. 离心结束, 弃上清, 将细胞重悬于 500 μ L Buffer 中, 计数。计数后用 Buffer 以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬细胞。

温馨提示:

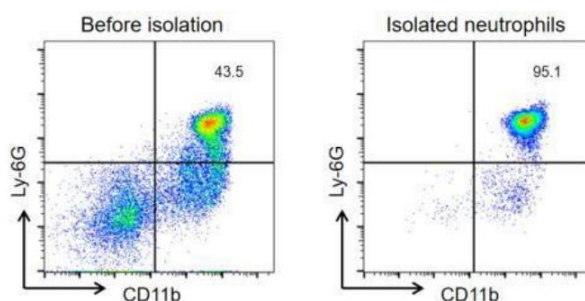
1. 建议选用低吸附移液器吸头和离心管, 避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗。
2. 红细胞裂解可根据所用裂解液不同调整用量及时间, 少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。
3. 分选样本需为单细胞悬液, 若裂红后仍有组织和细胞团块, 需要再过一次 70 μ m 细胞筛网后再计数, 否则会影响后续细胞分选纯度。
4. 5 mL 流式管分选范围为 1×10^7 cells 至 2×10^8 cells, 此范围内分选效果最佳。
5. 确保每一步无菌操作, 谨防污染。

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 1.5 mL 或 15mL 离心管*	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	4°C, 孵育 10 min
4	补 10 倍悬液体积的分选 Buffer 加至离心管, 离心洗涤细胞	500 g, 离心 5 min
5	弃上清, 加原本悬液体积的分选 Buffer 重悬细胞	1×10^8 cells/mL
6	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
7	加入清洗过的 Streptavidin-Beads 混悬液至细胞悬液	200 μ L/mL
8	轻轻吹打混匀磁珠和细胞, 孵育	4°C, 孵育 10 min
9	加入 Buffer 到样品中定容至指定体积	定容至 2.5 mL
10	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
11	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中性粒细胞

*细胞数小于 1×10^7 cells 用 1.5 mL 离心管, 细胞数大于 1×10^7 cells 用 15 mL 离心管。

分选效果:



从 C57BL/6 小鼠骨髓细胞中分选中性粒细胞, 分选前后的细胞用 FITC anti-mouse Ly-6G 抗体 (克隆号 1A8) 和 PE anti-mouse CD11b 抗体 (克隆号 M1/70) 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 43.5%和 95.1%。