

# 小鼠 B 细胞分选试剂盒

## 产品描述:

小鼠 B 细胞分选试剂盒是通过阴性分选法从小鼠脾脏、淋巴结或骨髓细胞中分离出 B 细胞。原理是选用不同的生物素 (biotin) 标记单克隆抗体对非目的细胞 (非 B 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 B 细胞分选的目的。本试剂盒内抗体组分包含 CD11b, 无法保留表达 CD11b 抗体的 B 细胞, 若需要保留该类群细胞 (比如需要保留 B1 谱系的 B 细胞时), 建议使用小鼠 Pan B 细胞分选试剂盒。分选过程需要用到磁极或者磁力架。

## 规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-906-100 规格 (For $1 \times 10^9$ cells)	Cat.No.:RG11-906-50 规格 (For $5 \times 10^8$ cells)
Biotin-Antibody Mix	200 $\mu$ L	100 $\mu$ L
Streptavidin-Beads	1 mL*2	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脾脏、淋巴结和骨髓中的 B 细胞。

## 设备和试剂要求:

分选缓冲液: 不含钙镁离子的 PBS+2 mM EDTA+2% FBS (或 0.5%BSA)

无菌红细胞裂解液、计数液

耗材: 70  $\mu$ m 无菌细胞筛网、离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

## 样本制备:

小鼠脾脏:

1. 在 70  $\mu$ m 细胞筛网上研磨脾脏, 用预冷的 PBS 冲洗筛网, 收集细胞悬液于 50 mL 离心管中, 500 g 离心 5 min。(骨髓细胞悬液制备后同样使用 70  $\mu$ m 细胞筛网过滤, 收取至 50 mL 离心管中。500 g, 离心 5 min。)
2. 离心结束, 弃上清, 按照每只小鼠加入 5 mL 红细胞裂解液 (ACK), 室温裂解 5 min, 再加入 20 mL PBS 终止裂解, 500 g 离心 5 min。
3. 离心结束, 弃上清, 将脾细胞或骨髓细胞重悬于 PBS 中, 细胞悬液用 70  $\mu$ m 细胞筛网过滤后计数。将细胞重悬于分选 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  $\mu$ m 细胞筛网后再计数, 否则会影响后续细胞分选纯度。
4. 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

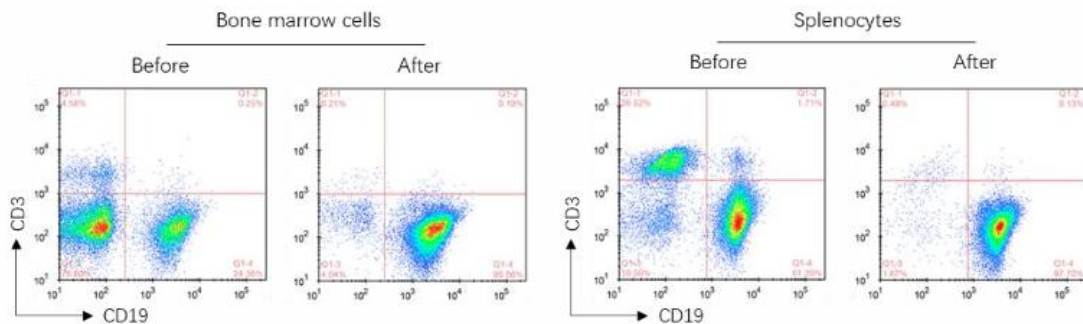
Streptavidin-Beads。

- 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。
6. 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 15 mL 无菌离心管	$1 \times 10^8$ 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	加入 1 mL 分选 Buffer，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	$1 \times 10^8$ cells/mL
6	涡旋震荡磁珠（Streptavidin-Beads）30s 后，取步骤 7 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 (或磁力架磁吸 3 min)
7	加入清洗过的 Streptavidin-Beads 混悬液至细胞悬液	200 $\mu$ 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 min
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小鼠 B 细胞

**分选效果:**



从 C57BL/6 小鼠骨髓细胞和脾脏细胞中分选 B 细胞，分选前后的细胞用 FITC anti-mouse CD3 抗体（克隆号 145-2C11）和 APC anti-mouse CD19 抗体（克隆号 6D5）标记后进行流式细胞仪分析，骨髓细胞分选前后的 B 细胞纯度分别为 24.6%和 95.8%，脾脏细胞分选前后的 B 细胞纯度分别为 62.9%和 97.8%。