

B细胞分选试剂盒II，人(92-01-0066)

[组分]

1 mL B 细胞生物素抗体混合物，人：抗 CD2、CD14、CD16、CD36、CD43 和 CD235a (糖蛋白 A) 的单克隆抗体偶联生物素混合物。

2 mL 抗生物素磁珠：与单克隆抗生物素抗体偶联的磁珠（同种型：小鼠 IgG1）

[规格] 可分选 10^9 个细胞总量。

[保存形式] 所有组分均储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2-8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[试剂和仪器要求]

- 缓冲液：配制含有 pH7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- 分选柱和分选器
- （可选）预分离过滤器（30 μ m），用于去除细胞团块。

[步骤]

一、磁珠标记

- ▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液（2-8 °C）。

▲ 下面给出的磁珠标记规模为 10^7 个细胞总量。当处理少于 10^7 个细胞时，使用与指示相同的试剂体积。当处理较高的细胞数时，相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如，对于 2×10^7 总细胞，使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。将细胞通过 $30\ \mu\text{m}$ 尼龙网，去除可能堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

1. 细胞计数。
2. 每 10^7 个细胞总量使用 $40\ \mu\text{L}$ 缓冲液重悬。
3. 每 10^7 个细胞总量添加 $10\ \mu\text{L}$ B 细胞生物素抗体混合物。
4. 充分混匀， $2-8\ ^\circ\text{C}$ 孵育 5 分钟。
5. 每 10^7 个细胞总量添加 $30\ \mu\text{L}$ 缓冲液。
6. 每 10^7 个细胞加入 $20\ \mu\text{L}$ 抗生物素磁珠。
7. 充分混匀， $2-8\ ^\circ\text{C}$ 孵育 10 分钟。
8. 进行细胞分选步骤。

▲ 注：磁分选至少 $500\ \mu\text{L}$ 细胞悬液，如有必要，在细胞悬液中添加缓冲液。

二、细胞分选

▲ 始终等到分选柱储液器排空后再进行下一步操作。

9. 将分选柱置于相对应的分选器中。
10. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：

xM: $500\ \mu\text{L}$

xL: $3\ \text{mL}$

11. 将细胞悬液转移至分选柱中。收集含有未标记的流出液，代表富集的 B 细胞。
12. 加适量的缓冲液，待液体全部流尽，再加入适量缓冲液，一共洗 3 次。并与步骤 11 的流出液混合。收集总流出物，这是未标记的细胞。

xM: 3×500 μ L

xL: 3×3 mL

13. (可选) 将分选柱从分选器中取出，加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，立即冲洗掉磁性标记的非 B 细胞。

xM: 1 mL

xL: 5 mL