

Pan B细胞分选试剂盒II，小鼠(92-01-0161)

[组分]

1 mL FcR 封闭试剂，小鼠

1 mL PanB 细胞生物素抗体混合物，小鼠：抗 CD3 ϵ 、CD4、CD8a、CD49b、CD90.2、Gr-1 和 Ter119 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，请勿冻存。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。

▲ 注：EDTA 可由其他补充剂替代，如抗凝柠檬酸葡萄糖配方-A（ACD-A）或柠檬酸磷酸葡萄糖（CPD）。BSA 可以用其他蛋白质代替，例如人血清白蛋白、人血清或胎牛血清。不建议使用含有 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的缓冲液或培养基。

● 分选柱和分选器

● （可选）预分离过滤器去除细胞团块。

[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℃）。

▲ 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液是很重要的。

1. 细胞计数。
2. 每 10^7 个细胞总量使用 35 μL 缓冲液重悬。
3. 每 10^7 个细胞总量添加 5 μL FcR 封闭试剂。
4. 每 10^7 个细胞总量添加 10 μL Pan B 细胞生物素抗体混合物。
5. 充分混匀，2-8℃ 孵育 5 分钟。
6. 每 10^7 个细胞总量添加 30 μL 缓冲液。
7. 每 10^7 个细胞加入 20 μL 抗生物素磁珠。
8. 充分混匀，2-8℃ 孵育 10 分钟。
9. 进行后续的细胞分选。

▲ 注：磁分选至少 500 μL 细胞悬液，如有必要，在细胞悬液中添加缓冲液。

三、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。

10. 将分选柱置于相对应的分选器中。



11. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：

xM: 500 μ L

xL: 3 mL

12. 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。

13. 加适量的缓冲液，收集并与步骤 11 的流出液混合。收集总流出物，这是未标记的细胞。

xM: 500 μ L

xL: 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