

Fc受体阻断剂，人(92-01-0046)

[组分]

Fc 受体阻断剂，人

[规格] 2 mL

[产品形式] FcR 阻断试剂以含稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的溶液供应。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存，请勿冻存。有效期见试剂外标签。

[背景信息]

与 FcR 阻断试剂一起孵育可提高抗体或磁珠标记的特异性，从而提高靶细胞的纯度，包括极其罕见的靶细胞，如抗原特异性 B 细胞、母体血液中的胎儿细胞、干细胞或弥漫性上皮肿瘤细胞等。

[试剂要求]

- 缓冲液： 配制含有 pH 7.2 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。
- (可选) PI 或 7-AAD 可以用于流式分析中排除死细胞。
- (可选) 死细胞清除试剂盒用于死细胞的清除。

- (可选) 固定和死细胞鉴别试剂盒，用于细胞固定和流式细胞仪排除死细胞。
- (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。

[步骤]

一、样本准备

在处理抗凝外周血或缓冲液时，应使用密度梯度离心法分离外周血单核细胞（PBMCs），例如使用 Ficoll-Paque™ 进行分离。

▲注：要去除密度梯度分离后的血小板，可将细胞颗粒重悬于缓冲液中，然后在 20 °C 下以 200 ×g 离心 10-15 分钟。小心吸出上清液。重复洗涤步骤。

处理组织时，使用温和的组织解离器制备单细胞悬液。

▲死细胞可能与磁珠非特异性结合。要去除死细胞，建议使用密度梯度离心法或死细胞去除试剂盒。

二、使用 FcR 阻断试剂和磁珠对人源细胞进行磁性标记

▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。

▲ 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 μm 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。

▲ 在冰上工作可能需要增加孵育时间。较高的温度和/或较长的孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

1. 细胞计数。
2. 将细胞悬浮液在 $300\times g$ 转速下离心 10 分钟。完全吸取上清液。
3. 每 60 μL 缓冲液重悬最多 10^7 个细胞。
4. 每 10^7 总细胞加入 20 μL FcR 阻断试剂。
5. 混匀并在冰箱中孵育 10 分钟 ($2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) 。
6. 根据制造商的建议添加磁珠，并按照相应的步骤操作。

三、使用 FcR 阻断试剂和抗体标记人源细胞

▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。

▲ 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)。

▲ 建议孵育温度为 $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。温度过高和/或孵育时间过长可能导致细胞标记不特异。在冰上操作可能需要延长孵育时间。

1. 细胞计数。
2. 将细胞悬浮液在 $300\times g$ 转速下离心 10 分钟。完全吸取上清液。
3. 每 80 μL 缓冲液重悬细胞总数达 10^7 。
4. 加入 20 μL FcR 阻断试剂。
5. 充分混合并在冰箱 ($2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) 中孵育 10 分钟。
6. 根据生产商的建议添加抗体，并按照相应的操作步骤进行。