

# 使用说明书

Instruction Manual

TargetMol  
YOUR TARGET MOLECULES

## 小鼠中性粒细胞分选试剂盒 (阴选)

Mouse Neutrophil Cell Isolation Kit (negative selection)

### 产品描述

TargetMol 的小鼠中性粒细胞分选试剂盒 (阴选) 提供超顺磁性微珠, 采用阴性分选法, 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进行标记, 而后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠对非目标细胞进行清除, 从而达到小鼠中性粒细胞分选的目的。

### 细胞分选的产品推荐

#### 1. 小鼠细胞

	脾脏	淋巴结	外周血	骨髓	肿瘤组织
CD3 <sup>+</sup> T 细胞	C0061		/	/	/
CD4 <sup>+</sup> 细胞	C0062 (首选), C0067 (可选)		C0067	/	C0067
CD8 <sup>+</sup> 细胞	C0063 (首选), C0068 (可选)		C0068	/	C0068
中性粒细胞	C0064	/	C0064	C0064	/

#### 2. 人源细胞

	外周血	脐带血
CD3 <sup>+</sup> T 细胞	C0065	/
CD34 <sup>+</sup> 细胞富集	C0066	C0066
CD4 <sup>+</sup> T 细胞	C0148	/
CD8 <sup>+</sup> T 细胞	C0149	/
CD3/CD28 T 细胞激活	C0150	/
CD66b <sup>+</sup> 细胞	C0151	/

### 产品特点

1. 纯度高: 分选细胞的纯度高, 可达 95% 以上。
2. 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活, 无抗体和磁珠标记。
3. 易操作: 无需使用分离柱, 通过磁力架即可实现目标细胞分离。
4. 速度快: 最快只需 30 min 即可获得目标细胞。

### 产品应用

- 适用于从小鼠骨髓细胞、小鼠脾脏细胞、小鼠外周血及其混合样本中分选出中性粒细胞。

### 产品组成

产品编号	产品名称	产品包装 (for 5×10 <sup>8</sup> cells)	产品包装 (for 1×10 <sup>9</sup> cells)
C0064-1	Biotin-Antibody Mix	100 μL	200 μL
C0064-2	Streptavidin Magnetic Beads	1 mL	2 mL

### 操作说明

1. 制备单细胞悬液: 将小鼠的骨髓、脾脏或外周血细胞采集到离心管中, 并进行红细胞裂解。  
注: 红细胞裂解的时间和用量可根据所用裂解液进行调整, 少量红细胞的残留对后续分选和细胞纯度影响不大。通常, 小鼠外周血的红细胞裂解需要更长的时间。骨髓细胞即使不进行红细胞裂解也可以直接分选, 但红细胞含量较高时, 分选的细胞纯度可能会有小于 5% 的轻微下降。

- 裂解完成后，将细胞重悬于 PBS 中，并用 70 μm 的细胞筛网过滤。细胞计数完成后，500 g 离心 5 min。  
注：为避免组织碎片和细胞团块影响后续分选的纯度，细胞悬液需经过细胞筛网过滤。
- 离心结束后，弃去上清液，将细胞重悬于分选缓冲液中，500 g 离心 5 min。再次将细胞重悬于分选缓冲液中，并调整细胞浓度至  $1 \times 10^8$  个细胞/mL。  
注：分选缓冲液推荐配方：PBS，含有 2 mM EDTA 和 2% FBS；或 PBS，2 mM EDTA 和 0.5% BSA。缓冲液需预先经 0.22 μm 滤膜过滤灭菌。
- 将 100 μL 的细胞悬液（含  $1 \times 10^7$  个细胞）加入 1.5 mL 无菌流式管底部，再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix，混匀后在 4°C 下孵育 10 min。  
注：将细胞加入流式管底部时，避免沿管壁添加。若分选更多细胞，Biotin-Antibody Mix 的用量需按比例增加。根据磁力架的不同，也可使用离心管进行细胞分选。
- 细胞孵育结束后，加入分选缓冲液至 1.5 mL，500 g 离心 5 min 洗涤细胞。  
注：如果分选的细胞量较大，建议使用 15 mL 离心管，并将分选缓冲液补至 5-10 mL 后再进行离心。
- 离心结束后，弃去上清液，将细胞重悬于 100 μL 分选缓冲液中。  
注：如果分选更多细胞，需按比例增加分选缓冲液的用量。
- 磁珠预处理：涡旋振荡重悬磁珠，将所需量的磁珠移至 1.5 mL 离心管中，加入 1 mL 分选缓冲液，10000 g 离心 1 min，弃去上清。重复以上洗涤步骤一次。加入与原体积相同的分选缓冲液重悬磁珠。若使用 20 μL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μL 分选缓冲液重悬。
- 向细胞中加入 20 μL 经过预处理的 Streptavidin Magnetic Beads，混合均匀，4°C 下孵育 10 min。  
注：若分选的细胞数量较多，Streptavidin Magnetic Beads 的用量需按比例增加。例如，分选  $5 \times 10^7$  个细胞时，在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μL Biotin-Antibody Mix 和 100 μL Streptavidin Magnetic Beads。若分选的细胞少于  $1 \times 10^7$  个，则应将细胞悬液体积补至 100 μL，并加入 2 μL Biotin-Antibody Mix 和 20 μL Streptavidin Magnetic Beads。
- 孵育结束后，在流式管中加入 2.5 mL 分选缓冲液，用移液器轻轻吹打混匀 5 次，避免剧烈振荡或上下颠倒混匀。
- 将装有细胞的流式管置于磁力架上静置 5 min。
- 将细胞悬液轻轻倒入无菌离心管中，倒出过程中流式管保持在磁力架上。500 g 离心 5 min，弃去上清，收集细胞。
- 根据实验要求洗涤细胞后，将其重悬于所需的缓冲液或培养基中，便可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

## 保存条件

4°C，2 年。

## 注意事项

- 避免冷冻试剂盒各组分。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
- 在从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
- 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 阴选法和阳选法的比较

磁性细胞分选技术	阴选法	阳选法
样本类型	多样	多样
捕获方式	磁珠结合非目的细胞	磁珠结合目的细胞
是否需要解离	不需要	需要
目的细胞是否有抗体标记	无	有
细胞纯度	>97%	>95%
细胞活性	高	高
特点	目的细胞纯度高； 细胞无抗体、无磁珠残留； 细胞活性更好，适用于下游功能实验。	样本范围更广泛

