

# 使用说明书

Instruction Manual

TargetMol  
YOUR TARGET MOLECULES

## 人 CD66b<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒 (阳选)

Human CD66b<sup>+</sup> Cell Isolation Kit (positive selection)

### 产品描述

TargetMol 的人 CD66b<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒 (阳选) 提供超顺磁性微珠, 共价包被单克隆抗体, 对人 CD66b 抗原细胞具有特异性。CD66b 是一种糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 连接的蛋白, 分子量约为 95-100 kDa, 主要在中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的细胞膜上表达, 但在嗜碱性粒细胞和淋巴细胞上不表达, 它参与细胞黏附、细胞迁移和病原体识别。

人 CD66b<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒 (阳选) 的原理是利用 CD66b Capture Antibody 对 CD66b<sup>+</sup> 细胞进行标记, 然后通过 Releasable Beads 对目标细胞进行捕获, 再用 Beads Release Buffer 将磁珠从细胞表面解离, 从而得到无磁珠标记的人 CD66b<sup>+</sup> 细胞。这种快速、温和的分离方法无需使用色谱柱且有助于确保分离出的 CD66b<sup>+</sup> 细胞的纯度、回收率和存活率都很高。分选得到的 CD66b<sup>+</sup> 细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

### 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: 分选后细胞纯度高, 可达 98%。
2. 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活和磁珠标记, 细胞活性 95% 以上。
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。

### 产品应用

- 适用从人外周血中分选 CD66b<sup>+</sup> 细胞。

### 产品组成

产品编号	产品名称	产品包装 (for 1×10 <sup>9</sup> cells)
C0151-1	CD66b Capture Antibody	200 μL
C0151-2	Releasable Magnetic Beads	2 mL
C0151-3	Magnetic Beads Release Buffer	40 mL

### 操作说明

1. 细胞样品制备: 将新鲜抗凝的全血取入离心管中, 并进行红细胞裂解。  
**注:** 建议使用 EDTA 抗凝全血, 裂解液的用量和时间可根据实际情况进行调整。如果初次裂解不完全, 可进行第二次裂解。少量残留红细胞对细胞分选纯度影响不大。
2. 红细胞裂解后, 用 PBS 重悬细胞, 进行洗涤。以 500 g 离心 5 min。
3. 离心结束后, 弃去上清液, 将细胞重悬于分选缓冲液中, 并调整细胞浓度至 1×10<sup>8</sup> 个细胞/mL。  
**注:** 分选缓冲液推荐配方: PBS, 含有 2 mM EDTA 和 2% FBS。缓冲液需预先经 0.22 μm 滤膜过滤灭菌。

- 将 500  $\mu\text{L}$  的细胞悬液 (含  $5 \times 10^7$  个细胞) 加入无菌流式管底部, 再加入 10  $\mu\text{L}$  CD66b Capture Antibody, 混匀后在  $4^\circ\text{C}$  下孵育 15 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, CD66b Capture Antibody 的用量需按比例增加。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  $\mu\text{L}$ , 并加入 2  $\mu\text{L}$  CD66b Capture Antibody。根据磁力架的不同, 也可使用离心管进行细胞分选。
- 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  $\mu\text{L}$  磁珠进行清洗, 则清洗后用 20  $\mu\text{L}$  分选缓冲液重悬。
- 细胞孵育结束后, 在流式管中加入 100  $\mu\text{L}$  经过预处理的 Releasable Magnetic Beads, 混合均匀,  $4^\circ\text{C}$  下孵育 15 min。  
**注:** 若分选的细胞数量较多, Releasable Magnetic Beads 的用量需按比例增加。若分选的细胞少于  $1 \times 10^7$  个, 则应并加入 20  $\mu\text{L}$  Releasable 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, 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。
- 弃去上清液。从磁力架取下流式管, 迅速加入 2 mL 分选缓冲液, 使用移液器多次轻轻吹打以重新分散磁珠。然后将流式管重新放回磁力架, 静置 5 min。
- 重复以上洗涤步骤两次。  
**注:** 充分的清洗有助于确保后续洗脱过程中获得高纯度的目标细胞。
- 磁吸结束后, 弃去上清液。取下流式管, 迅速加入 1 mL Magnetic Beads Release Buffer 重悬磁珠, 确保磁珠不干燥, 将磁珠悬液转移到 1.5 mL 离心管中, 在室温下旋转孵育 10 min。  
**注:** 当分选的细胞数量不同, 可以相应调整 Magnetic Beads Release Buffer 的体积。如果分选的细胞数量少于  $1 \times 10^7$ , 使用 200  $\mu\text{L}$  Magnetic Beads Release Buffer 进行洗脱。
- 孵育结束后, 使用移液器反复吹打至少 10 次, 将磁珠悬液转移到一个新的流式管中, 加入分选缓冲液至 1.5 mL, 轻轻吹打混匀后, 将流式管放置在磁力架上静置 5 min。
- 此时上清液中含有目标细胞, 将上清液转移至一个 15 mL 离心管中备用。迅速加入 1 mL Magnetic Beads Release Buffer 重悬磁珠, 防止其干燥, 并将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中, 在室温下旋转孵育 10 min。
- 重复细胞洗脱 (步骤 11) 一次, 保留上清液。
- 将第二次洗脱后的上清液与第一次的上清液混合, 500 g 离心 5 min, 弃去上清液, 即可获得无磁珠标记的 CD66b<sup>+</sup>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

$4^\circ\text{C}$ , 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

