

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

人中性粒细胞分选试剂盒 (阴选)

Human Neutrophil Cell Isolation Kit (negative selection)

产品描述

TargetMol 的人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, 从新鲜外周血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, 从而达到人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 ⁺ T 细胞	C0061		/	/	/
CD4 ⁺ 细胞	C0062 (首选), C0067 (可选)		C0067	/	C0067
CD8 ⁺ 细胞	C0063 (首选), C0068 (可选)		C0068	/	C0068
中性粒细胞	C0064	/	C0064	C0064	/
CD3 ⁺ 细胞去除	C0152	C0152	/	/	/
CD3/CD28 T 细胞激活	C0180	/	/	/	/
B 细胞	C0218	C0218	/	C0218	/

2. 人源细胞

	外周血	脐带血
CD3 ⁺ T 细胞	C0065	/
CD34 ⁺ 细胞富集	C0066	C0066
CD4 ⁺ T 细胞	C0148	/
CD8 ⁺ T 细胞	C0149	/
CD3/CD28 T 细胞激活	C0150	/
CD66b ⁺ 细胞	C0151	/
中性粒细胞	C0216	/
CD3 ⁺ 细胞去除	C0217	/

产品特点

1. 纯度高: 分选细胞的纯度高, 可达 98%。
2. 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活, 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 25 min 即可获得目标细胞。

产品应用

- 适用于从新鲜人外周血中分选出中性粒细胞, 分选前需去除红细胞。

产品信息

产品编号	产品名称	产品包装 (for 5×10 ⁸ cells)	产品包装 (for 1×10 ⁹ cells)
C0216-1	Biotin-Antibody Mix	100 μL	200 μL
C0216-2	Streptavidin Magnetic Beads	1 mL	2 mL

操作说明

1. 制备单细胞悬液: 将新鲜抗凝外周血采集到离心管中, 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。通常建议按外周血体积的 3-5 倍加入裂解液, 在 4°C 或冰浴条件下孵育。如裂解效果不理想, 可重复一次处理。少量红细胞残留一般不影响后续分选纯度。

- 裂解完成后，将细胞重悬于 PBS 中，并用细胞筛网过滤。细胞计数完成后，500 g 离心 5 min。
- 离心结束后，弃去上清液，加入 PBS 重复以上洗涤步骤一次，以充分去除裂解液及细胞碎片。离心弃上清，将细胞重悬于分选缓冲液中，并调整细胞浓度至 1×10^8 个细胞/mL。
注：分选缓冲液推荐配方：PBS，含有 2 mM EDTA 和 2% FBS。缓冲液需预先经 0.22 μ m 滤膜过滤灭菌。
- 将 100 μ L 的细胞悬液（含 1×10^7 个细胞）加入 1.5 mL 无菌流式管底部，再加入 2 μ L 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。
- 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 μ L 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μ L 分选缓冲液重悬。
- 向细胞中加入 20 μ L 经过预处理的 Streptavidin Magnetic Beads，混合均匀，室温下孵育 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 5×10^7 个细胞时，在 500 μ L 细胞悬液中加入 10 μ L Biotin-Antibody Mix 和 100 μ L Streptavidin Magnetic Beads。若分选的细胞少于 1×10^7 个，则应将细胞悬液体积补至 100 μ L，并加入 2 μ L Biotin-Antibody Mix 和 20 μ L 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。
- 推荐使用磁场强度大于 7000Gs 的磁力架，磁性过低可能影响分选效果。
- 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

