

# 小鼠脾脏 B 细胞分离试剂盒使用说明

Cat NO: IMP-MK019

## 产品描述

B 细胞是机体最重要的免疫细胞类型之一，在小鼠脾脏中的含量高达 50-60%，小鼠脾脏 B 细胞分离试剂盒可通过阳性分选法从小鼠脾脏中分离纯化出 B 细胞，纯化后可用于进一步进行培养扩增或者直接进行 RT-qPCR、Western blot、流式细胞术等各种免疫学实验。

## 适用范围

本试剂盒适用于分离小鼠脾脏中的 B 细胞。

## 运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表，所有组分开封后，有效期为 6 个月。

## 试剂盒组成信息

表 2. 试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-MK019SA	B 细胞分选抗体	20 $\mu$ L	2-8°C 6 个月
IMP-MK019MA		40 $\mu$ L	
IMP-MK019LA		100 $\mu$ L	
IMP-MK019SB	链霉亲和素纳米磁珠	100 $\mu$ L	2-8°C 6 个月
IMP-MK019MB		200 $\mu$ L	
IMP-MK019LB		500 $\mu$ L	

## 分离步骤

1. 取新鲜小鼠脾脏一只，在 70  $\mu$ m 细胞筛网上研磨脾脏，以预冷的 PBS 冲洗细胞筛网，收集细胞悬液于 50 mL 离心管中，500 g，离心 5 min（一个小鼠脾脏可取得 5-10 $\times$ 10<sup>7</sup> 个脾脏细胞）。

2.离心结束，弃上清，加入 5 mL 红细胞裂解液，室温裂解 5 min，再加入20 mL PBS，500 g，离心 5 min。

3.离心完成后，弃上清，将脾脏细胞重悬于 PBS，细胞悬液用 70  $\mu\text{m}$  细胞筛网过滤后，计数，计数完成后，将脾脏细胞悬液 500 g，离心 5 min。

4.将细胞重悬于分选Buffer 中，调整细胞密度为  $1 \times 10^8$  cells/mL（分选 Buffer 为含有 2 mM EDTA 和 1% BSA 的 PBS，使用前需预先通过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌），调整细胞密度为  $1 \times 10^8$  cells/mL。

5.取 100  $\mu\text{L}$  细胞悬液加入 2  $\mu\text{L}$  B 细胞分选抗体混合均匀，4 $^{\circ}$  C 孵育 15 min，期间每隔 5 min 轻弹管壁使细胞与抗体混合均匀。

6.孵育完成后加入 1 mL 分选 Buffer 重悬，500 g，离心 5 min，弃去上清，加入 100  $\mu\text{L}$  的分选 Buffer 重悬。

7. 吸取 10  $\mu\text{L}$  链霉亲和素纳米磁珠与细胞混匀，混匀后4 $^{\circ}$  C 孵育 15 min，期间每隔 5 min轻弹管壁使细胞和磁珠混合均匀（此试剂盒说明书为分选和扩增  $1 \times 10^7$  个小鼠脾脏细胞中的 B 细胞的使用说明，如果分选更多的细胞，则可按比例增加抗体和链霉亲和素磁珠的用量，少于  $1 \times 10^7$  个细胞则将细胞悬液体积补至 100  $\mu\text{L}$ ，加入 2  $\mu\text{L}$  抗体和 10  $\mu\text{L}$  链霉亲和素磁珠）。

8.孵育完成后，加入 1 ml 的 B 细胞分选 Buffer 重悬，500 g，离心 5 min，去除上清，加入 500  $\mu\text{L}$  分选 Buffer 重悬，准备磁性分选。

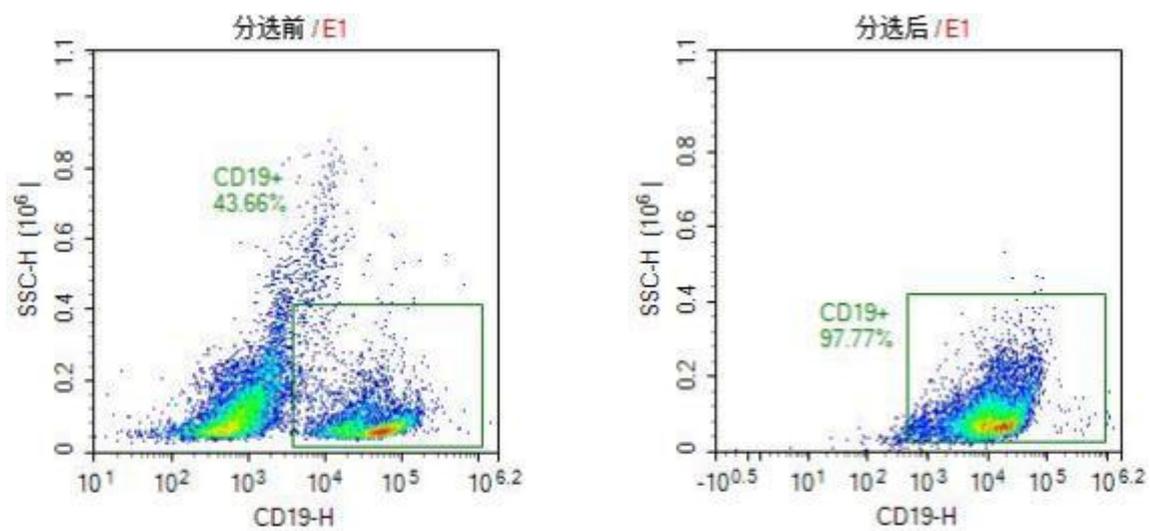
9.将分选柱放入磁场中，加入 500  $\mu\text{L}$  B 细胞分选 Buffer 润洗柱子。

10.将重悬好的细胞悬液缓慢加入分选柱中，注意不要产生气泡，待分选柱中的液体流尽时再次加入 500-1000  $\mu\text{L}$  分选 Buffer 清洗两次，流出的液体即为未结合磁珠的细胞。

11.将分选柱从磁场中移出，置于合适的离心管中，吸取 1mL B 细胞分选 Buffer 加入分选柱，使用配套的活塞将结合在分选柱上的细胞推出，收集推出的细胞即为目标细胞。

## 分选效果

对使用本试剂盒分选前后的小鼠脾脏中的 B 细胞进行流式细胞分析检测显示，分选前后的 B 细胞纯度分别为 43.66%和 97.77%。



### 注意事项

- 1.磁珠和抗体混合液使用和保存过程中均应避免冷冻、高速离心等操作。
- 2.操作过程应在无菌环境下进行，必须保证操作过程中使用的所有容器及所有直接接触细胞液的器具严格无菌。
- 3.本产品需要与磁力架配套使用。
- 4.本产品仅供科研使用。