

小鼠脾脏 NK 细胞分离试剂盒（阴选）

Cat NO: IMP-MK018

产品描述

NK 细胞是机体最重要的免疫细胞类型一，在小鼠脾脏中的含量在 3-5%左右，小鼠脾脏 NK 细胞分离试剂盒可通过**阴性分选法**从小鼠脾脏中分离纯化出NK 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 NK 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（10/20/50t）

产品名称	产品规格	储存条件
NK 细胞分选抗体	20 μL	2-8°C 6 个月
	40 μL	2-8°C 6 个月
	100 μL	2-8°C 6 个月
链霉亲和素磁珠	200 μL	2-8°C 6 个月
	400 μL	2-8°C 6 个月
	1000 μL	2-8°C 6 个月

分离步骤

1.取新鲜小鼠脾脏一只，在 70 μm 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 5-10×10⁷ 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 3-5 min，再加入 20 mL PBS，500 g，离心 5 min（实际步骤建议参考使用的红细胞裂解液说明书）。

3.离心完成后，弃上清，将脾脏细胞重悬于 PBS，细胞悬液用 70 μm 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 1×10^8 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 μm 滤膜过滤除菌）。

5.取 100 μL 细胞悬液加入 2 μL NK 细胞分选抗体混合均匀，4 $^{\circ}\text{C}$ 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 μL 的分选 Buffer 重悬。

7. 吸取 20 μL 链霉亲和素磁珠（吸取前涡旋振荡重悬磁珠，确保磁珠完全重悬，加入 1 mL 分选 Buffer 进行重悬清洗磁珠，1000 g 离心 5 min 或在磁场中吸附，弃去上清，加入 20 μL 的分选 Buffer 重悬）。

8.将磁珠与细胞混匀，混匀后 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 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 1×10^7 个脾脏细胞中的 NK 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、链霉亲和素磁珠的用量，少于 1×10^7 个细胞则将细胞悬液体积补至 100 μL ，加入 2 μL 抗体和 20 μL 链霉亲和素磁珠）。

9.孵育完成后，加入 2.5 mL 的 NK 细胞分选 Buffer 重悬，用移液器上下混合吹打 5 次混匀（避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀），移入一个无菌流式管中。

10.将含有细胞的流式管置于磁力架上，静置 5 min，待磁珠被吸附，细胞悬液变为清澈后将细胞悬液吸入一个无菌离心管中（期间流式管在磁力架中），此细胞悬液中即包含纯化的小鼠脾脏 NK 细胞，500 g，离心 5 min，弃去上清，收集细胞。

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。