

## 小鼠 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞分选试剂盒

ImunoSep™ Mouse CD117(c-Kit)<sup>+</sup> Cell  
Positive Selection Kit

货 号:	721702	10 次
	721705	50 次
	721710	100 次
	721720	200 次

**储 存:** 2-8°C。避免冷冻。

**有 效 期:** 详见试剂瓶。

**注意事项:** 为保证分选的细胞不被细菌污染,请在生物安全柜中执行所有细胞分选步骤。

## 产品介绍

小鼠 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞分选试剂盒用于阳性分选小鼠骨髓中的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞,其利用生物素化抗体标记 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞,再用 Anti-Biotin 超顺磁纳米微珠结合被标记的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞;当细胞悬液置于磁场中时,被磁珠结合的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞滞留在磁场中,CD117(c-Kit)<sup>-</sup>细胞悬浮在细胞悬液中保持游离,从而将小鼠脾脏或淋巴结中的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup>细胞分选出来。

分选后的细胞,可以利用小鼠 CD117 单克隆抗体流式分析检测验证分选后细胞的纯度。

## 成 分

### 1. ImunoSep™ 小鼠 CD117 (c-Kit)<sup>+</sup>细胞分选试剂 A:

20 μL/次。

### 2. ImunoSep™ 小鼠 CD117 (c-Kit)<sup>+</sup>细胞分选试剂 B:

20 μL/次。

使用剂量: 在 100 μL 体系中,分别使用分选试剂 A (20

μL/次) 和分选试剂 B (20 μL/次) 标记  $1 \times 10^7$  细胞。如果细胞数量不足  $1 \times 10^7$  细胞,使用试剂量请按照一次分选所使用的试剂量标记细胞,进行细胞分选。

## 相关产品

Anti-Mouse CD117-PE (#12-1171 eBioscience)

Mouse Hematopoietic Lineage-FITC (#22-7770 eBioscience)

## 实验步骤

以下实验方法是用于阳性分选试剂盒分选目的细胞的一般实验步骤。在阳性细胞分选中,用分选试剂 A 标记目的细胞,再用分选试剂 B 结合被标记的细胞。当细胞悬液置于磁场中时,被标记的目的细胞滞留在磁场中,而非目的细胞悬浮在溶液中保持游离,可通过倾倒去除。

## 需要另外准备的试剂和耗材

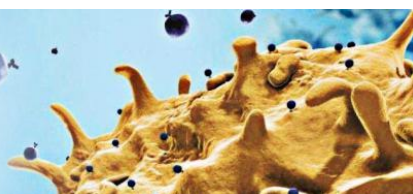
- 1) ImunoSep™ Buffer (500 mL) #604050。
- 2) 分选磁极 #602005。
- 3) 流式管 (12×75 mm, 5 mL) #352058。
- 4) 离心管 (15 mL)。

## 警 告

分选磁极可产生强磁场。远离心脏起搏器、信用卡、磁性 ID 卡、手表、电脑显示器和硬盘等电子设备,以防损坏仪器设备。

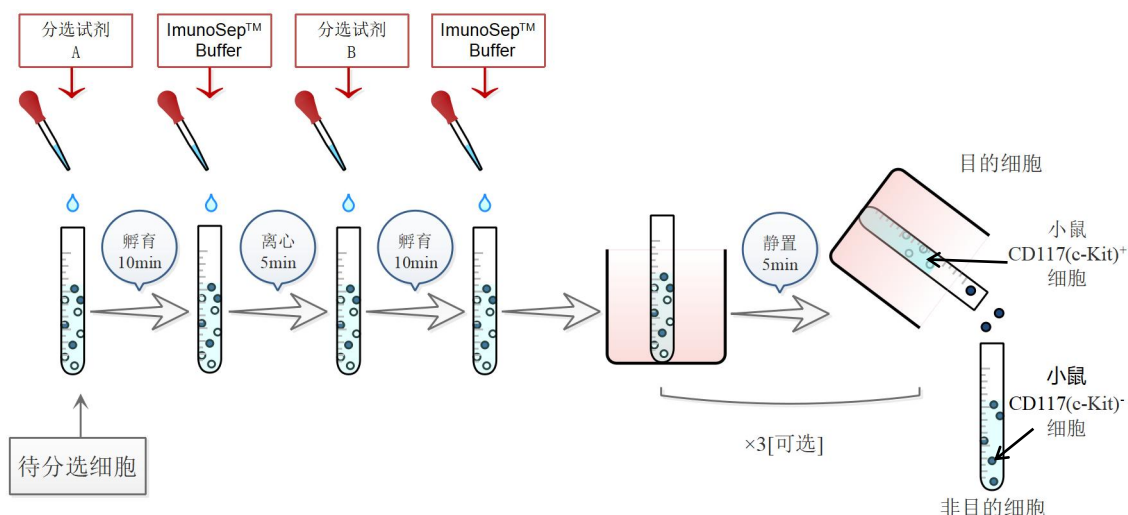
## A. 细胞准备

1. 除非另有说明,分选试剂盒优化用于分选小鼠单细胞悬液中的目的细胞。
2. 对于小鼠骨髓细胞,建议使用 40 μm 细胞过滤网,过滤单细胞悬液去除碎屑或细胞组织团块,以获得最佳试剂盒分选性能。
3. 建议使用 ImunoSep™ Buffer (含 EDTA)。



## B. 细胞分离

实验流程:



1. 用适当体积的 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞, 调整细胞浓度至  $1 \times 10^8$ /mL (每 100  $\mu$ L 细胞悬液中含  $1 \times 10^7$  细胞), 制备单细胞悬液。

**注意:** 细胞必须是单细胞悬液。如有必要, 进行涡旋振荡或用移液管移除团块, 然后再继续细胞分选。

2. 在 12×75 mm, 5 mL 流式管中放置所需数量的细胞, 但不超过  $2 \times 10^8$  细胞。

3. 每 100  $\mu$ L 细胞悬液添加 20  $\mu$ L 分选试剂 A。通过涡旋仪混匀或利用 1 mL Tip 吹打 5 次混匀。在室温下孵育 10 分钟。

4. 加入 ImunoSep™ Buffer 至 4 mL, 洗涤细胞, 然后在室温下以  $300 \times g$  离心 5 分钟。

5. 弃去上清液, 用 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞至其初始体积。

6. 每 100  $\mu$ L 细胞添加 20  $\mu$ L 分选试剂 B, 利用 1 mL Tip 吹打 5 次或涡旋仪震荡混匀。在室温下孵育 10 分钟。

**注意:** 分选试剂 B 在添加到细胞悬液前, 必须用 1 mL Tip 混合均匀, 以确保最佳性能。

7. 添加 ImunoSep™ Buffer 至 2.5 mL。用 1 mL Tip 吹打 3 次混合均匀, 请勿涡旋混匀。

8. 将盛有细胞悬液的 5 mL 流式管插入磁极中, 使流式管底部通过磁极底部孔道, 直至接触到工作台面。在室温条件下静置 5 分钟。

9. 保持流式管在磁极中, 将磁极和流式管一同拿起, 迅速将含有未结合的 CD117(c-Kit)<sup>-</sup> 细胞上清液倒入 15 mL 无菌

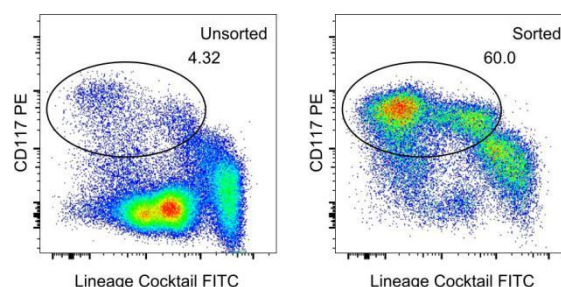
离心管中。流式管倒置时长不可超过 2 秒, 随即将其恢复到直立位置。

**注意:** 请勿晃动或摇动磁极中倒置的流式管, 以降低分选细胞的纯度。

10. 从磁极中取出含有结合 CD117(c-Kit)<sup>+</sup> 细胞的流式管, 再重复步骤 7 至 9, 共洗涤 3 次。

11. 从磁极中取出含有 CD117(c-Kit)<sup>+</sup> 细胞的流式管, 再向其中加入 1 mL ImunoSep™ Buffer。通过吸取 ImunoSep™ Buffer 来清洗管壁上的 CD117(c-Kit)<sup>-</sup> 细胞。分选所得的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup> 细胞可供下游实验使用。

## 分选细胞流式检测报告



小鼠 CD117(c-Kit)<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒分离小鼠骨髓中的 CD117(c-Kit)<sup>+</sup> 细胞后, 利用 Anti-Mouse CD117-PE 和 Mouse Hematopoietic Lineage-FITC 标记细胞, 对分选前(左)或分选后(右)的细胞进行流式分析。