

## 小鼠 CD45+细胞分选试剂盒说明书

### 1 产品信息

产品名称	型号	产品成分
小鼠 CD45+细胞分选试剂盒	K1304-10	1 mL 小鼠 CD45 生物素抗体 1 mL 链霉亲和素磁珠
小鼠 CD45+细胞分选试剂盒 (试用装)	K1304-10T	200 $\mu$ L 小鼠 CD45 生物素抗体 200 $\mu$ L 链霉亲和素磁珠

### 2 产品描述

小鼠 CD45+细胞分选试剂盒可以快速、简便地从单细胞悬液中分离出 CD45+细胞。产品粒径小，生物相容性良好，不影响后续实验，主要用于小鼠脾脏、胸腺、淋巴结或外周血单个核细胞（PBMC）的 CD45+细胞分选。

主要原理：通过向单细胞悬液中加入适量的抗体和磁珠，并通过分选柱磁吸附方式获取目的 CD45+细胞。获得的 CD45+细胞可直接用于流式分析、二代测序、细胞培养等下游实验应用。

### 3 容量

最多可处理  $2 \times 10^9$  个总细胞，最多可达 200 次分离（ $10^7$  个总细胞/次）。

### 4 运输和保存

2~8 °C 运输；

2~8 °C 避光存储，不能冷冻，有效期 12 个月。

### 5 试剂与仪器要求

缓冲液：pH 7.2 的磷酸盐溶液（PBS），含 0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA

细胞分选柱 LarSep Columns（瑞沃德，型号 HCSC-25）

30  $\mu$ m 细胞滤器

注意：

- 不建议使用含有  $\text{Ca}^{2+}$  或  $\text{Mg}^{2+}$  的 PBS。
- 避免使用含有大量气泡的缓冲液，以防气泡堵塞分选柱。

### 6 使用方法

#### 6.1 样本准备

- 1) 处理淋巴器官、非淋巴组织或外周血时，使用单细胞悬液制备仪或手动制备单细胞悬液。
- 2) 用缓冲液润洗 30  $\mu$ m 细胞滤器后过滤细胞悬液。细胞悬液制备完成后低温保存于 2~8 °C。
- 3) （可选）较多的死细胞或红细胞可能会影响分选效果，可利用死细胞去除试剂和红细胞裂解液去除死细胞和红细胞。

#### 6.2 磁性标记

注意：

- 以下步骤给出的试剂推荐用量可处理  $10^7$  个总细胞，如细胞数量少于  $10^7$ ，则按  $10^7$  个细胞加入

试剂；如细胞数量多于  $10^7$ ，应按比例相应增加试剂用量。

● 尽量快速操作，保持细胞冷却，并使用预冷溶液，以减少非特异性细胞标记。

- 1) 测定细胞数量，将细胞悬液浓度调整至  $1 \times 10^8$  个细胞/mL。
- 2) 取 100  $\mu$ L 细胞悬液（含  $10^7$  个细胞）。
- 3) 加入 5  $\mu$ L 抗体。
- 4) 混合均匀，放入冰箱（2 ~ 8  $^{\circ}$ C）孵育 10 min。
- 5) 用 1 ~ 2 mL 缓冲液洗涤细胞，500 $\times$ g 离心 5 min，彻底弃去上清。
- 6) 用 100  $\mu$ L 缓冲液重悬细胞。
- 7) 加入 5  $\mu$ L 磁珠。
- 8) 混合均匀，放入冰箱（2 ~ 8  $^{\circ}$ C）孵育 15 min。
- 9) 用 1 ~ 2 mL 缓冲液洗涤细胞，500 $\times$ g 离心 5 min，彻底弃去上清。
- 10) 如细胞数量不超过  $1.25 \times 10^8$ ，则用 500  $\mu$ L ~ 1 mL 缓冲液重悬。若细胞数量超过  $1.25 \times 10^8$ ，则应增加缓冲液。
- 11) 进行磁性分选。

### 6.3 磁性分选

注意：以下每一步加入缓冲液之前都要确保上一次加入分选柱的液体流完（即分选柱下端没有连续的液滴滴下）后再加。

- 1) 将分选柱放置于合适的磁场中。
- 2) 用 2 mL 缓冲液洗涤分选柱。
- 3) 将细胞悬液加入分选柱内，收集流出液（含未标记的细胞）。
- 4) 再分别用 2 mL 缓冲液洗涤分选柱 2 ~ 3 次，收集流出液，与步骤 3) 的流出液混合。
- 5) 待上一步加入的缓冲液流完后，将分选柱移出磁场置于新的收集管上。
- 6) 加入 1 ~ 2 mL 缓冲液后用分选柱配套的活塞打下缓冲液，得到标记的 CD45+细胞。
- 7) （可选）为了提高 CD45+细胞的纯度，重复步骤 3) 至 6) 对 CD45+细胞进行富集。

### 7 注意事项

- 1) 请勿混用不同批次号的产品及组分。
- 2) 本试剂盒有效期为 12 个月，瑞沃德不保证过期产品的有效性。
- 3) 应保证在无菌条件下完成所有操作。
- 4) 细胞孵育温度为 2 ~ 8  $^{\circ}$ C，高温或延长孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

©2023 深圳市瑞沃德生命科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技有限公司

网址：www.rwdls.com

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区留新四路万科云城三期 C 区九栋 A 座 1901 房

邮编：518000      电话：400-966-9516      传真：+86-755-86146750

7\*24 小时售后热线：+86-755-86111281

售后邮箱：service@rwdls.com