

人 pan B细胞分离试剂盒

Cat No.:KF-HN3002

产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极分离人PBMC中的pan B细胞（包含plasma cells等）。分离过程中抗体和磁珠不会接触pan B细胞，能够最大限度保持pan B细胞最原始的状态。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记非pan B细胞，再将细胞和链霉亲和素纳米磁珠孵育偶联，然后通过磁极进行无柱分离。目标细胞只需倒入一个新的管中即可分离，分离后的细胞可立即用于后续应用，如流式细胞术、细胞培养和功能实验等。

- 纯度大约90%以上
- 分选过程中，FACSBuffer 需要预冷，20-30分钟完成分离

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Kylin Human FcR Blocker	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	封闭FcR受体，降低抗体非特异性结合
Kylin Human pan B Cell Isolation Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	识别非pan B细胞抗体混合液，标记非目的细胞
Kylin Streptavidin Nanobeads	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	磁珠结合非pan B细胞，通过磁极去除

BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline 运输条件：4° C运输

设备和试剂要求

缓冲液：FACS Buffer（1 x PBS+2% FBS+0.02% EDTA），FBS最好选择进口大牌（部分国产会引起抗体激活）

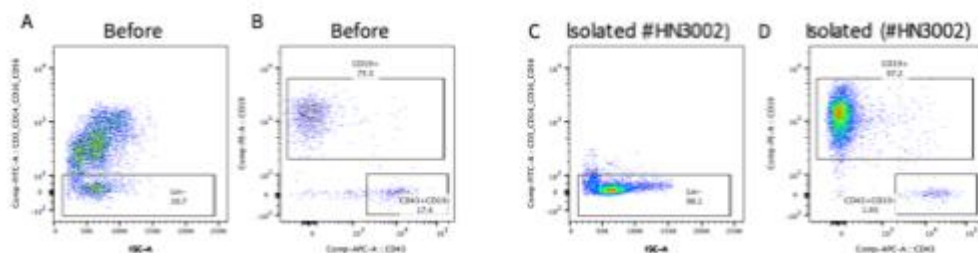
- 耗材：无菌流式管（适配单孔磁极）或者15mL离心管（适配磁极）或者50mL离心管（适配单孔磁极）
- 仪器：离心机，磁极

温馨提示

- 推荐采用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心分离PBMC，不建议采用红细胞裂解液
- 自行配置的FACS Buffer，请确保渗透压稳定和低内毒素，免疫细胞较为敏感
- 确保每一步无菌操作，谨防污染
- 以实际总细胞数作为起始细胞量（死活细胞均纳入计数），样本孵育浓度按说明书要求，不要参考既往经验



数据展示



如图：从PBMC中分选Pan B细胞及相关纯度。（A-B）分选前，pan B Lineage (CD3⁻, CD14⁻, CD16⁻, CD56⁻) 的纯度大约18.7%, 其中CD19⁺CD43⁺占比75.5%, CD19⁻CD43⁺的比例为17.4%。（C-D）采用pan B细胞分选试剂盒（#HN3002）分选后，pan B Lineage纯度达98.1%，其中CD19⁺占比97.2%。

操作步骤

步骤	操作说明	剂量和时间
1	从外周血通过淋巴细胞分离液密度梯度离心，分离PBMC后，需进行细胞计数。 Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数； PBMC可以采用400 g离心5 min	制备样本
2	采用适量FACS buffer重悬细胞， 制备PBMC单细胞悬液至指定浓度。 Note: 分选前样本的细胞浓度不超过1 x 10 ⁸ cells/mL，试剂根据样品体积等比例调整； 如细胞总数为1x 10 ⁷ cells，则细胞重悬至100 μL体积，后续试剂加10 μL即可； 单次分选细胞量最好不低于1 x 10 ⁷ cells，低于该数值，按照1 x 10 ⁷ cells计算。	1 x 10 ⁸ cells/mL
3	加入Kylin Human FcR Blocker至样品中，轻轻混匀。 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	100 μL/mL
4	加入Kylin Human pan B cell Isolation Cocktail至样品中，轻轻混匀。 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	100 μL/mL
5	Cocktail中的抗体和细胞孵育10 min	常温孵育10 min
6	加入5倍以上体积的FACS buffer,400 g 离心5分钟， 再加入初始体积的FACS buffer重悬细胞 Note: 如起始细胞体积为100 μL，则加入500 μL以上的FACS buffer洗涤细胞，然后再用100 μL FACS buffer重悬细胞	洗涤去除游离抗体
7	震荡混匀 Streptavidin Nanobeads	混匀5-30s
8	加 Streptavidin Nanobeads至 样品 中	100 μL/mL
9	轻柔混匀磁珠和细胞， 常温孵育5min Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下； 本步骤中磁珠会出现沉底的情况，可以在2.5min时，再次混匀一下	常温孵育5min
10	加入FACS Buffer到样品中，立即放置在磁极上， 防止磁珠大量沉底。	总体积加入至2.5 mL (5 mL流式管) 总体积加入至 7.5 mL (15 mL离心管)



11	样品置于磁极上，使磁珠吸附在管壁上。	单孔磁力架吸附（3 min） 联排磁力架吸附（5 min）
12	倾斜磁力架，将样品倒入新的收集管中，收集样品 Note: 分选的细胞可采用400g 离心10分钟，用于后续培养和分析	细胞分离成功

细胞分选试剂使用剂量表(PBMC浓度为 1×10^8 cells/mL)

细胞总量	细胞体积	Isolation Cocktail	Streptavidin Nanobeads	磁极类型
1×10^7 cells	100 μ L	10 μ L	10 μ L	5 mL 单孔磁极
2×10^7 cells	200 μ L	20 μ L	20 μ L	5 mL 单孔磁极
5×10^7 cells	500 μ L	50 μ L	50 μ L	5 mL 单孔磁极
1×10^8 cells	1 mL	100 μ L	100 μ L	5 mL 单孔磁极
2×10^8 cells	2 mL	200 μ L	200 μ L	15 mL 联排磁极
5×10^8 cells	5 mL	500 μ L	500 μ L	15 mL 联排磁极
1×10^9 cells	10 mL	1 mL	1 mL	50 mL 单孔磁极
2×10^9 cells	20 mL	2 mL	2 mL	50 mL 单孔磁极

