

死细胞去除试剂盒

产品货号：BA3149

产品规格：1 kit

产品简介：

分选原理

死细胞去除磁珠能识别凋亡细胞和死亡细胞质膜上的一个分子。为了去除死细胞，对死细胞进行磁珠标记，然后通过分选柱。磁性标记的死细胞被保留在分选柱中。未标记的活细胞则通过分选柱，从而去除细胞中的死细胞。将分选柱从磁场中移除后，磁性保留的死细胞可作为正选细胞部分被洗脱出来。使用死细胞去除试剂盒，即使是细胞膜完整的早期凋亡细胞也能被去除。活化细胞，如细胞培养物中的活化细胞，也可被标记。

产品组成：

产品名称	规格 (1×10^9)	保存条件
死细胞去除磁珠	10mL	2-8°C, 避光
20×结合缓冲液储液	25mL	2-8°C, 避光

注：死细胞去除磁珠储存在含有稳定剂的缓冲液中。

试剂和仪器要求：

1. 无菌双蒸水 (ddH₂O)。
▲ 注意：请勿使用去离子水进行稀释！
2. 分选柱和分选器。
3. (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。
4. (可选) 组织解离器，自动组织解离器，带有加热模块的组织解离器。
5. (可选) 组织解离试剂盒。

操作步骤：

一、样本准备

1. 去除死细胞磁珠易受细菌污染。请在无菌条件下进行处理。
2. 处理含有血小板的细胞样本（如血液样本）时，用低速离心（200×g）仔细清洗样本以去除血小板。这些清洗步骤应使用含有离子螯合剂EDTA的缓冲液。去除死细胞磁珠会与活化血小板结合。活化的血小板也会与单核细胞等白细胞结合。在这种情况下，与活化血小板结合的有活力细胞会留在磁场中，从而降低活细胞的回收率。
处理组织时，使用组织解离器和组织解离试剂盒制备单细胞悬浮液。
3. 由于缺乏可获得的抗原，使用死细胞去除磁珠无法去除无任何质膜残留的死细胞（无细胞核的细胞器）。

二、缓冲液准备

1. 所有洗涤和分选步骤均使用从死细胞去除试剂盒随附的20×结合缓冲液储液中配制的1×结合缓冲液。稀释20×结合缓冲液储液时必须使用无菌双蒸水。
注意：请勿使用去离子水稀释！
例如：用 9.5mL 无菌双蒸水稀释 500μL 20×结合缓冲液。储存于 2-8°C。或者，用 475mL 无菌双蒸水稀释25mL 20×结合缓冲液，制备1×结合缓冲液。
▲ 注意：在无菌条件下处理！
▲ 注意：死细胞去除磁珠的结合需要Ca²⁺。离子螯合剂EDTA的存在会破坏结合。1×结合缓冲液经过优化，可实现最佳的死细胞去除磁珠结合效果。使用不同的缓冲液可能会导致死细胞去除效率降低。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

三、磁珠标记

▲ 下面给出的磁珠标记规模为 10^7 个细胞总量。当处理少于 10^7 个细胞时，使用与指示相同的试剂体积。当处理较高的细胞数时，相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如，对于 2×10^7 总细胞，使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。将细胞通过 $30\mu\text{m}$ 尼龙网，去除可能堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

▲ 建议孵育温度为 $20-25^\circ\text{C}$ 。较高的温度和/或较长的孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

1. 细胞计数。
2. $300 \times g$ 离心10分钟。去除上清。
3. 每 10^7 个细胞总量使用 $100\mu\text{L}$ 死细胞去除磁珠重悬。
4. 混匀，室温($20-25^\circ\text{C}$)孵育15分钟。
5. (可选)必要时，在细胞悬液中加入 $1 \times$ 结合缓冲液，使其达到 $500\mu\text{L}$ 的最小分选体积。
6. 进行细胞分选步骤。

四、细胞分选

▲ 根据总细胞数和标记细胞数选择合适的分选柱和分选器。

▲ 始终等到分选柱储液器空后再进行下一步操作。

xM或xL分选柱进行细胞分选

1. 将分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用适当体积的 $1 \times$ 结合缓冲液润洗分选柱： xM: $500\mu\text{L}$ xL: 3mL
3. 将细胞悬液转移至分选柱中。收集包含未标记细胞的流出液。
4. 结合磁珠的细胞会被吸附到分选柱上，没有结合的细胞会顺着液体流下来。加适量的 $1 \times$ 结合缓冲液，待液体全部流尽，再加入适量缓冲液，一共洗4次。收集总流出物，和第3步的流出液混合在一起。

xM: $4 \times 500\mu\text{L}$ xL: $4 \times 3\text{mL}$

5. 将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。
6. 加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是磁性标记的细胞。
xM: 1mL xL: 5mL
7. (可选)为了提高死细胞去除的效率，活细胞部分可以在第二个xM或xL柱上富集。用新的分选柱重复步骤1至6中描述的磁分选过程。
8. 使用膜非透性染料(如台盼蓝)对死亡细胞进行显微分析，或使用碘化丙啶溶液或7-AAD染色溶液进行流式细胞分析。

保存方法:

$2-8^\circ\text{C}$ 避光保存，请勿冷冻。

注意事项:

1. 过硫酸铵APS配制成10%溶液后，应当 -20°C 保存。同时应尽量减少室温存放时间，以防失效。
2. TEMED易挥发，使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节TEMED的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
3. TEMED易燃，有腐蚀性，请注意防护。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

附表：

溶液成分	分离胶不同体积 (ml) 凝胶溶液中各成分所需体积 (ml)							
	5	10	15	20	25	30	40	50
8% SDS-PAGE								
H ₂ O	2.3	4.6	6.9	9.3	11.5	13.9	18.5	23.2
30% Acr-Bis (29:1)	1.3	2.7	4.0	5.3	6.7	8.0	10.7	13.3
1.5M Tris-HCl, pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.003	0.006	0.009	0.012	0.015	0.018	0.024	0.03
10% SDS-PAGE								
H ₂ O	1.9	4.0	5.9	7.9	9.9	11.9	15.9	19.8
30% Acr-Bis (29:1)	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10.0	13.3	16.7
1.5M Tris-HCl, pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
12% SDS-PAGE								
H ₂ O	1.6	3.3	4.9	6.6	8.2	9.9	13.2	16.5
30% Acr-Bis (29:1)	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	16.0	20.0
1.5M Tris-HCl, pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
15% SDS-PAGE								
H ₂ O	1.1	2.3	3.4	4.6	5.7	6.9	9.2	11.5
30% Acr-Bis (29:1)	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	20.0	25.0



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

1.5M Tris-HCl, pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
溶液成分	浓缩胶不同体积 (ml) 凝胶溶液中各成分所需体积 (ml)							
	1	2	3	4	5	6	8	10
H ₂ O	0.68	1.4	2.1	2.7	3.4	4.1	5.5	6.8
30% Acr-Bis (29:1)	0.17	0.33	0.5	0.67	0.83	1.0	1.3	1.7
1.0M Tris-HCl, pH6.8	0.13	0.25	0.38	0.5	0.63	0.75	1.0	1.25
10% SDS	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08	0.1
10% APS	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08	0.1
TEMED	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008	0.01



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>