

Human CD66b⁺ Cell Isolation Kit

人 CD66b⁺ 细胞分选试剂盒（阳选）

产品编号	产品名称	规格
BL5843S	人CD66b ⁺ 细胞分选试剂盒（阳选）	for 1*10 ⁸ cells
BL5843A	人CD66b ⁺ 细胞分选试剂盒（阳选）	for 1*10 ⁹ cells

产品简介：

人 CD66b⁺ 细胞分选试剂盒（阳选）是适用于从人外周血单细胞悬液中分选出 CD66b⁺ 细胞。原理是利用 CD66b Capture Antibody 对 CD66b⁺细胞进行标记，然后通过 Releasable Beads 对目标细胞进行捕获，再用 Beads Release Buffer 将磁珠从细胞表面解离，从而得到无磁珠标记的人 CD66b⁺细胞。CD66b 是一种 95-100 kDa 的糖基磷脂酰肌醇（GPI）连接蛋白，它在中性粒细胞和嗜酸性粒细胞上表达，但在嗜碱性粒细胞和淋巴细胞上不表达。本产品适用于分选人外周血 CD66b⁺ 细胞，分选得到的 CD66b⁺ 细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

产品组分：

编号	产品名称	BL5843S	BL5843A
1	CD66b Capture Antibody	20 μ L	200 μ L
2	Releasable Beads	0.2 mL	2 mL
3	Beads Release Buffer	4 mL	40 mL

使用方法（仅供参考）：

一、细胞样品制备流程：

1、取新鲜抗凝全血于离心管中，进行红细胞裂解。

注：推荐使用 EDTA 抗凝全血，红细胞裂解步骤可根据所用裂解液的不同调整用量及时间，若一次裂解不充分，可进行二次裂解。少量红细胞残留不会影响分选细胞纯度。

2、裂解完成后，PBS 重悬，洗涤细胞，500 g，离心 5 min。

3、离心完成后，弃上清，将细胞重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1 \times 10⁸ cells/mL。

注：分选 Buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS，需预先通过 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。

二、细胞样品制备流程：

1、将 500 μ L 细胞悬液（5 \times 10⁷ 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 10 μ L CD66b Capture Antibody，混匀后 4 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。

注：加入细胞悬液时将细胞加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架不同也可使用离心管进行细胞分选。分选其它数量细胞时可则按比例调整 CD66b Capture Antibody 的用量。如果分选少于 1 \times 10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μ L，加入 2 μ L CD66b Capture Antibody。

2、孵育完成后，在流式管中加入 100 μ L 清洗过的 Releasable Beads，混匀后 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min（磁珠使用前需要用分选 Buffer 进行清洗：涡旋振荡重悬磁珠，吸取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入 1 mL 分选 Buffer，10,000 g 离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 Buffer 重复洗涤磁珠 1 次后用与原

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



来相同体积的分选 Buffer 重悬磁珠。如吸取 20 μL 磁珠进行清洗,则清洗后用 20 μL 分选 Buffer 进行重悬)。

注: 如分选其它数量细胞时可则按比例调整 Releasable Beads 的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞,使用 20 μL Releasable Beads。

3、孵育完成后,在流式管中加入 2.5 mL 分选 Buffer,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)。将流式管置于磁力架上,静置 5 min。。

4、吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下,迅速加入 2 mL 分选 Buffer 重悬磁珠,避免磁珠干燥。将流式管置于磁力架上,静置 5 min。

5、重复步骤 4 两次(彻底的清洗步骤可以保证获得高纯度的目的细胞)。

6、磁吸结束后,吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下,迅速加入 1 mL Beads Release Buffer 重悬磁珠,避免磁珠干燥,将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中,室温旋转孵育 10 分钟。

注: 分选其它数量细胞时可则按比例调整 Beads Release Buffer 的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞,使用 200 μL Beads Release Buffer 洗脱细胞。

7、孵育完成后,用移液器反复吹打至少 10 次,将磁珠悬液转移至一个新的流式管中,置于磁力架上,静置 5 分钟。

注: 分选较少数量细胞时,可补加分选 Buffer 至 1.5 mL 后再磁吸。如分选 2×10^7 个细胞(400 μL Beads Release Buffer),转移至新流式管后,补加分选 Buffer 至 1.5 mL,吹打混匀后再置于磁力架上磁吸。

8、将上清液转移到一个新的流式管中备用(上清中含有目的细胞,不要丢弃)。迅速用 1 mL Beads Release Buffer 再次重悬磁珠,避免磁珠干燥,将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中,室温旋转孵育 10 分钟。

9、孵育完成后,用移液器反复吹打至少 10 次,将磁珠悬液转移至一个新的流式管中,置于磁力架上,静置 5 分钟。

10、将上清液与第一次洗脱后的细胞上清液混合,置于磁力架上,静置 5 min,去除残留磁珠。

11、将上清液转移至离心管中,500g,离心 5 min,弃上清,即可收集到无磁珠标记的 CD66b⁺细胞。

分选效果:

从人外周血细胞中分选 CD66b⁺ 细胞,用 Alexa Fluor 647 标记的 antiCD66b 抗体(克隆号 6/40c)染色后进行流式细胞分析,分选前后的 CD66b⁺ 细胞纯度分别为 52.62%和 99.67%。

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、建议选用低吸附移液器吸头和离心管,避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗;
- 3、本产品需与磁性分离器配套使用;
- 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;
- 5、为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件:

2-8°C 保存,不可冷冻,有效期 1 年。

