

Human Neutrophil Isolation Kit

人中性粒细胞分选试剂盒（阴选）

产品编号	产品名称	规格
BL5929S	人中性粒细胞分选试剂盒（阴选）	for 1*10 ⁸ cells
BL5929A	人中性粒细胞分选试剂盒（阴选）	for 5*10 ⁸ cells
BL5929B	人中性粒细胞分选试剂盒（阴选）	for 1*10 ⁹ cells

产品简介:

人中性粒细胞分选试剂盒是通过阴性分选法从新鲜外周血中分离出中性粒细胞。原理是选用生物素（biotin）标记的单克隆抗体对非目标细胞进行标记，而后通过链霉亲和素（streptavidin）标记的磁珠对非目标细胞进行清除，从而达到人中性粒细胞分选的目的。分选过程需要用到磁力架。

适用范围:

本产品适用于分选新鲜人外周血中性粒细胞，分选之前需去除红细胞

产品组分:

编号	产品名称	BL5929S	BL5929A	BL5929B
1	Biotin-Antibody Mix	20 µL	100 µL	200 µL
2	Streptavidin Magnetic Beads	0.2 mL	1 mL	2 mL

样本制备:

1、取新鲜抗凝外周血于离心管中，加入红细胞裂解液，进行红细胞裂解。

注：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。一般建议加入相当于外周血体积 3-5 倍的红细胞裂解液，在 4°C 或冰上进行裂解。如一次裂解不充分，可进行第二次裂解。少量红细胞残留通常不会影响后续细胞分选的纯度。

2、红细胞裂解完成后，用 PBS 重悬细胞沉淀，经过细胞筛网过滤后 400 g，离心 5 min。

3、弃上清，加入 PBS 重复洗涤一次，以充分去除裂解液及细胞碎片。

4、洗涤完成后，弃上清，将细胞重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1×10⁸ 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 µm 滤膜过滤除菌。

使用方法（仅供参考）:

1、将 100 µL 细胞悬液（1×10⁷ 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 2 µL Biotin-Antibody Mix，混匀后室温孵育 10 min。

注：加入细胞悬液时将细胞加入离心管底部，避免沿管壁加入。如果分选更多细胞，则按比例增加 Biotin-Antibody Mix 的用量；如分选少于 1×10⁷ 个细胞，需使用分选 Buffer 补至 100 µL，Biotin Antibody Mix 仍使用 2 µL。

2、在离心管中加入 20 µL 清洗过的 Streptavidin Magnetic Beads（磁珠使用前需要用分选 Buffer 进行清洗：涡旋振荡彻底重悬磁珠，取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入分选 Buffer 至总体积为 1 mL，10,000 g，离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 Buffer 重悬磁珠，10,000 g，离心 1 min，弃上清。用与起初相同体积的分选 Buffer 重悬磁珠。如取 20 µL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 µL 分选 Buffer 进行重悬），

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。



混匀后室温孵育 10 min。

注：如果分选更多细胞，则按比例增加 Streptavidin Magnetic Beads 用量。例如分选 5×10^7 个细胞，在 500 μ L 细胞悬液中加入 10 μ L Biotin-Antibody Mix 和 100 μ L Streptavidin Magnetic Beads。

3、孵育完成后，将细胞和磁珠混合液转移至流式管中，补分选 buffer 至 2.5 mL，用移液器上下吹打充分混匀。

4、将含有细胞的分选流式管置于磁力架上，静置 5 min。

5、将细胞悬液轻柔倒入一个无菌离心管中（倾倒过程中流式管不要脱离磁力架，避免吸到磁珠），此细胞悬液中即包含纯化的人中性粒细胞。

6、根据实验需要洗涤细胞后，将细胞重悬于所需缓冲液或培养基中，即可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

分选效果：

从人外周血中分选中性粒细胞，分选前后的细胞用 Alexa Fluor 647 标记的 anti-human CD66b 抗体（克隆号 6/40c）和 FITC 标记的 anti-human CD16 抗体（克隆号 3G8）标记后进行流式细胞仪分析，分选前后的中性粒细胞纯度分别为 58.81 % 和 98.08 %。

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：

4°C 保存，不可冷冻，有效期 1 年。

