

## Human CD34<sup>+</sup> Cell Isolation Kit

### 人 CD34<sup>+</sup> 细胞富集试剂盒（阴选）

产品编号	产品名称	规格
BL1664A	人CD34 <sup>+</sup> 细胞富集试剂盒（阴选）	for 5*10 <sup>8</sup> cells
BL1664B	人CD34 <sup>+</sup> 细胞富集试剂盒（阴选）	for 1*10 <sup>9</sup> cells

#### 产品简介:

人 CD34<sup>+</sup> 细胞富集试剂盒是通过阴性分选法从人细胞样品中富集 CD34<sup>+</sup> 细胞。原理是利用生物素（biotin）标记的单克隆抗体对非目标细胞（非 CD34<sup>+</sup> 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，从而达到富集 CD34<sup>+</sup> 细胞的目的。本产品适用于从人脐带血单个核细胞（CBMC）或外周血单个核细胞（PBMC）中富集 CD34<sup>+</sup>细胞。

#### 产品组分:

编号	产品名称	BL1664A	BL1664B
1	Biotin-Antibody Mix	100 $\mu$ L	200 $\mu$ L
2	Streptavidin Magnetic Beads	1 mL	2x1 mL

#### 使用方法（仅供参考）:

1、制备人 CBMC 或 PBMC：利用 Ficoll 密度梯度离心法从人脐带血或外周血中分离单个核细胞，以 PBS 洗涤细胞，离心后将 CBMC 或 PBMC 重悬于分选 Buffer 中，调整细胞密度为 1 $\times$ 10<sup>8</sup> cells/mL。

注：分选 Buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS 或者含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS，需预先通过 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌。

2、将 100  $\mu$ L 细胞悬液（1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 2  $\mu$ L Biotin-Antibody Mix，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。如果分选更多细胞，则按比例增加 Biotin-Antibody Mix 的用量。

3、孵育完成后，在流式管中加入 20  $\mu$ L 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，10000 g，离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 buffer 重悬磁珠，10000 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  $\mu$ L 磁珠进行清洗，则清洗后用 20  $\mu$ L 分选 buffer 进行重悬），混匀后 4 $^{\circ}$ C 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 $\times$ 10<sup>7</sup> 个细胞，在 500  $\mu$ L 细胞悬液中加入 10  $\mu$ L Biotin-Antibody Mix 和 100  $\mu$ L Streptavidin Magnetic Beads。如果分选少于 1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100  $\mu$ L，加入 2  $\mu$ L Biotin-Antibody Mix 和 20  $\mu$ L Streptavidin Magnetic Beads。

4、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。

5、将含有细胞的分选流式管置于磁力架上，静置 5 min。

6、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），此细胞悬液中即包含富集的人 CD34<sup>+</sup> 细胞，300 g，离心 5 min。弃上清，收集细胞。

注：可根据实验需要重复步骤 2-6 一次，进一步提高 CD34<sup>+</sup>细胞的富集效果。

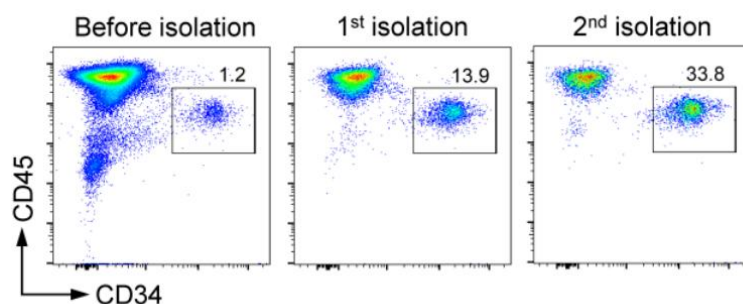
Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



7、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 CBMC 中富集 CD34<sup>+</sup>细胞，分选前后的细胞用 FITC anti-human CD45（克隆号 HI30）和 PE anti-human CD34 抗体（克隆号 581）标记后进行流式细胞仪分析。分选前 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 1.2%，第一次分选后 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 13.9%，第二次分选后 CD34<sup>+</sup>细胞的纯度为 33.8%。



#### 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。

