Anti-human CD66b Nanobeads

Catalog PH066B

For processing 1x10^8 cells (PH066BS)
For processing 5x10^8cells (PH066BM)
For processing 1x10^9 cells (PH066BL)

#Version 26.01

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

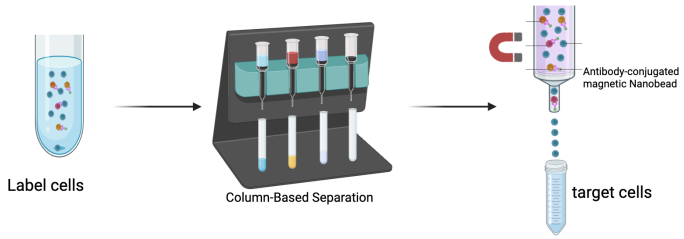
产品简介

CD66b 是一种 95–100 kD 的糖基磷脂酰肌醇（GPI）连接蛋白，也称为 CD67、CGM6 和 NCA-95。CD66b 是免疫球蛋白超家族中癌胚抗原（CEA）样亚家族的成员。CD66b 表达于粒细胞，并参与与 CD66c 的嗜异性黏附。

本产品采用 anti-human CD66b 抗体直接偶联纳米磁珠，可与样本中 CD66B+ 细胞特异性结合。在有柱分选的磁场中，CD66b+细胞会被吸附在分选柱中，其他细胞随重力流出，从而实现 CD66b+细胞分选或者去除。分选得到的细胞可直接应用于流式细胞检测、DNA/RNA 提取及后续细胞功能实验等下游研究。

·纯度最高可达 95%（人外周血样本）

·阳选和去除的高效平衡



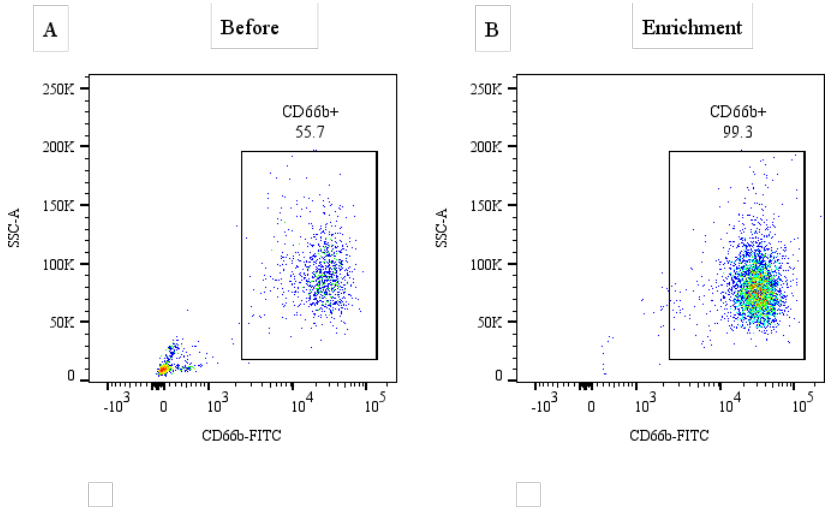
试剂盒组分

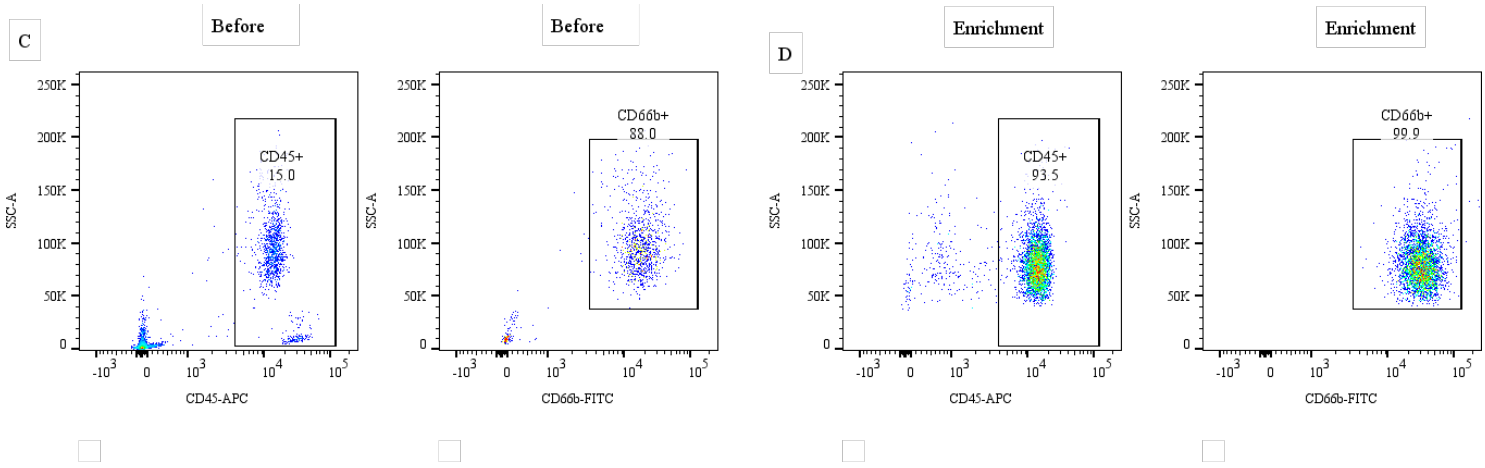
产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-human CD66b Nanobeads	4°C 保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 CD66B⁺ 细胞， 通过有柱磁分选获得/去除 CD66B⁺ 细胞

设备和试剂要求

缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+0.02% EDTA+2% FBS); 耗材：70 µm 无菌尼龙滤网，分选柱；仪器：离心机，磁力架 M1/M8 或者磁力架 L1/L4

数据展示(人外周血)





如图：采用 anti-human CD66b nanobeads 产品(#PH066B)分离人外周血的 CD66B⁺ 细胞，anti-human CD66b nanobeads 剂量为 20 µL/1x10^7 cells 。分选前后的细胞用 FITC anti-human CD66b 及 APC anti-human CD45 流抗进行标记，标记后进行流式细胞仪分析。（A-B）裂红处理的外周血样本分选前 CD66B⁺细胞占比 55.7%，裂红处理的外周血样本进行细胞分选后，CD66B⁺细胞占比 99.3%。（C）外周血样本分选前 CD45⁺细胞占比 15% ，其中 CD66B⁺细胞占比 88.0%。（D）外周血样本分选后 CD45⁺细胞占比 93.5% ，其中 CD66B⁺细胞占比 99.9%。

有柱磁珠分选操作步骤

全血裂红分选

步骤	操作说明	简易操作方法
1	外周血进行红细胞裂解，并进行细胞计数 Note: 推荐细胞采用 AO/PI 染色后进行计数；细胞可以采用 400 g 离心 5 min	制备样本
2	采用适量 FACS buffer 重悬细胞，制备单细胞悬液至指定浓度 1 x 10^8 cells/mL Note: 如细胞总数为 1 x 10^7 cells，则细胞重悬至 100 µL 体积，后续试剂加 20 µL 即可	1 x 10^8 cells/mL
3	加入 200 µL/mL 适量的 anti-human CD66b Nanobeads 至样品中，并轻轻混匀（参考表 1） Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下	200 µL/mL
4	磁珠和细胞在 4°C 孵育 15min	4°C 孵育 15 min
5	加入 10 倍体积 FACS Buffer， 400×g 离心 5 分钟后，去除上清	洗涤细胞
6	将细胞重悬于缓冲液中 Note：若细胞总数小于 1×10^8，则采用 500 µL FACS buffer; 若细胞总数大于 1×10^8，需按比例放大缓冲液体积	重悬细胞
7	将分选柱放入对应磁力分选器磁场中，用 FACS Buffer 润洗分选柱 Note: M 分选柱加入 0.5 mL； L 分选柱加入 3 mL	润洗分选柱
8	将细胞悬液加入至分选柱中，非目的细胞（CD66B-细胞）随重力流出，CD66B+保留在分选柱中 Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 CD66B 去除的细胞	上样
9	加入 FACS Buffer 洗涤柱子 3 次 Note：待柱内液体完全流空后再加下一次；M 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL	洗涤
10	向柱内加入 FACS Buffer，从磁极上取下分选柱，用配套柱塞快速、用力推压，洗脱磁性标记的阳性细胞 Note: M 分选柱加入 1 mL； L 分选柱加入 3 mL	收集目的细胞
11	（可选）在部分样本中，CD66B+细胞比例较低时，可以更换新的分选柱，重复步骤 7-10，可以得到更纯的细胞	进一步纯化

全血分选

步骤	操作说明	简易操作方法
1	加入 50 µl 的 anti-human CD66b Nanobeads 至 1 mL **外周血**中，并轻轻混匀 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下	50 µl/mL
2	磁珠和血样在 4°C 孵育 15 min	4°C 孵育 15 min
3	将全血分选柱放入对应磁力分选器磁场中，用 3 mL FACS Buffer 润洗分选柱	润洗分选柱
4	将孵育好的样本加入至分选柱中，非目的细胞（CD66B-细胞）随重力流出，CD66B+保留在分选柱中 Note: 收集流穿液即可获得 CD66B 去除的细胞	上样
5	加入 3mL FACS Buffer 洗涤柱子 3 次	洗涤
6	向柱内加入 4 mLFACS Buffer，从磁极上取下分选柱，用配套柱塞快速、用力推压，洗脱磁性标记的阳性细胞	收集目的细胞

温馨提示

- 采用 FACS Buffer 而不是 PBS 进行操作，能够提高细胞得率和活率
- 确保 FACS Buffer 渗透压稳定，免疫细胞较为敏感
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

表 1：分选柱载量参考表

分选柱	标记细胞数量	总细胞数量	磁极	平衡液体积	洗涤液体积
M 分选柱	＜1x10^7 cells	＜2x10^8 cells	磁极 M1/M8	500 µL	3 x 500 µL
L 分选柱	＜1x10^8 cells	＜2x10^9 cells	磁极 L1/L4	3 mL	3 x 3 mL