Anti-mouse CD19 Nanobeads

Catalog PM019

For processing 2x10^8 cells (PM019S)
For processing1x10^9 cells (PM019M)
For processing 2x10^9 cells (PM019L)

#Version 26.01

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

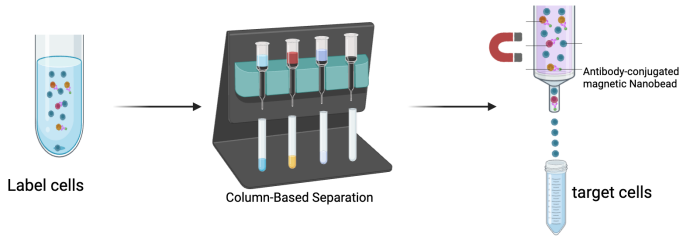
Make Research Easier

产品简介

CD19 是一种含 95 kD 的糖蛋白，也称为 B4。它是 Ig 超家族成员，表达在所有发育过程中的 Pro-B 到成熟 B 细胞和滤泡状树突状细胞上。浆细胞不表达 CD19。CD19 与 CD21 和 CD81 结合，形成 B 细胞激活的分子复合物.

本产品采用 anti-mouse CD19 抗体直接偶联纳米磁珠，可与样本中 CD19+ 细胞特异性结合。在有柱分选的磁场中，CD19+细胞会被吸附在分选柱中，其他细胞随重力流出，从而实现 CD19+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%（小鼠脾脏样本）
- 阳选和去除的高效平衡



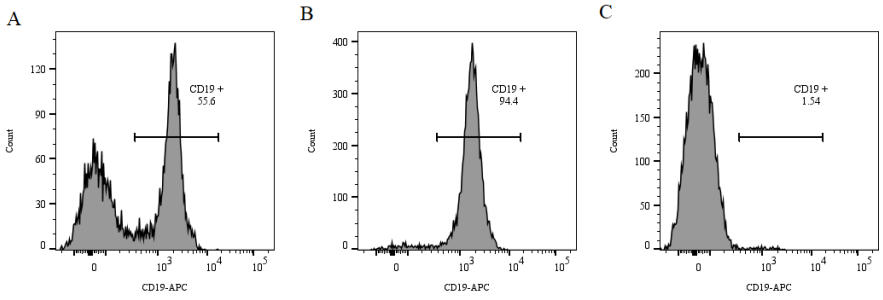
试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-mouse CD19 Nanobeads	4°C 保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 $CD19^+$ 细胞， 通过有柱磁分选获得/去除 $CD19^+$ 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(小鼠脾脏)



如图：采用 anti-mouse CD19 nanobeads 产品(#PM019)分离小鼠脾脏中的 $CD19^+$ 细胞，anti-mouse CD19 nanobeads 剂量为 10 µL/1x10^7 cells 。分选前后的细胞用 APC anti-mouse CD19 流抗进行标记，标记后进行流式细胞仪分析。（A）分选前小鼠脾脏中 $CD19^+$细胞占比 55.6%。（B）进行细胞分选后，$CD19^+$细胞占比 94.4%。（C）分选后流穿液中 $CD19^+$细胞占比 1.54%

有柱磁珠分选操作步骤

步骤	操作说明	简易操作方法
1	消化组织并裂解红细胞，制备单细胞悬液，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 10 µL 即可	1 x 10^8 cells/mL
3	加入适量的 anti-mouse CD19 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	剂量参考表 1
4	磁珠和细胞在 4°C 孵育 10min	4°C 孵育 10 min
5	加入 5 倍体积 FACS Buffer 到细胞中， 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（CD19-细胞）随重力流出，CD19+保留在分选柱中 Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 CD19 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，CD19+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

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：磁珠剂量推荐表（优化磁珠剂量可以得到最佳的细胞分选效果）

抗体标记细胞比例	样本类型	细胞浓度	磁珠剂量
＜10%	组织样本	1x10^8 cells/mL	1-5 µL/1x10^7 cells
10%-60%	小鼠脾脏	1x10^8 cells/mL	10 µL/1x10^7 cells

表 2：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