

Anti-mouse F4/80 Nanobeads

Catalog PM480

For processing 2×10^8 cells (PM480S)
For processing 1×10^9 cells (PM480M)
For processing 2×10^9 cells (PM480L)

#Version 26.01



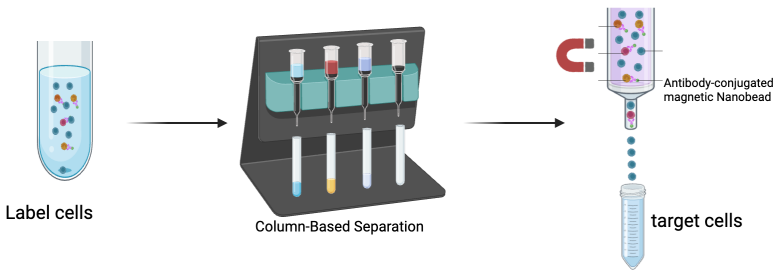
Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

F4/80（亦称 EMR1 或 Ly71）是一种分子量为 160 kD 的糖蛋白，隶属于表皮生长因子（EGF）-七次跨膜（TM7）蛋白家族。作为经典的小鼠巨噬细胞标志分子，F4/80 广泛表达于绝大多数组织定居巨噬细胞，包括肺、肠、腹膜腔、胸腺及脾红髓中的巨噬细胞，以及肝 Kupffer 细胞、皮肤 Langerhans 细胞、脑小胶质细胞和部分树突状细胞；但该分子在脾脏 T 细胞区、淋巴结及派氏结内的巨噬细胞上不表达。尽管其天然配体迄今尚未明确，已有研究证实 F4/80 参与 CD8⁺ T 细胞介导的外周耐受的诱导过程。

本产品采用 anti-mouse F4/80 抗体直接偶联纳米磁珠，可与样本中 F4/80⁺ 细胞特异性结合。在**有柱分选**的磁场中，F4/80⁺细胞会被吸附在分选柱中，其他细胞随重力流出，从而实现 F4/80⁺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。



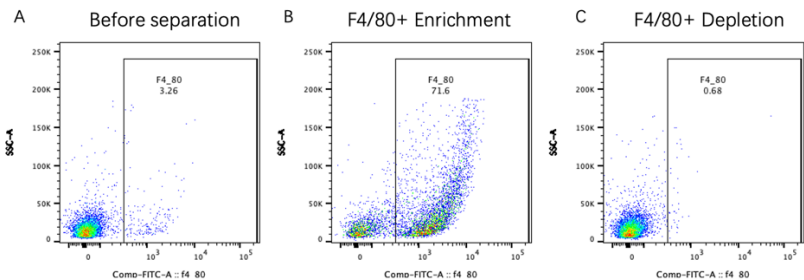
试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-mouse F4/80 Nanobeads	4℃ 保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 F4/80 ⁺ 细胞， 通过有柱磁分选获得/去除 F4/80 ⁺ 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 F4/80 nanobeads 产品(#PM480)分离小鼠骨髓中的 F4/80⁺ 细胞，anti-mouse F4/80 nanobeads 剂量为 10 μL/1x10⁷ cells。分选前后的细胞用 FITC anti-mouse F4/80 抗体标记后进行流式细胞仪分析。（A）分选前骨髓中 F4/80⁺细胞比例约为 3.26%。（B-C）进行细胞分选后，F4/80⁺纯度为 71.6%，剩余流穿液中，F4/80⁺细胞比例仅为 0.68%。

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 <i>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</i>	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 1×10^8 cells/mL <i>Note: 如细胞总数为 1×10^7 cells，则细胞重悬至 100 μL 体积，后续试剂加 10 μL 即可</i>	1×10^8 cells/mL
3	加入适量的 anti-mouse F4/80 Nanobeads 至样品中，并轻轻混匀（参考表 1） <i>Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下</i>	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 <i>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</i>	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 <i>Note: S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	润洗分选柱
8	将细胞悬液加入至分选柱中，非目的细胞（F4/80-细胞）随重力流出，F4/80+保留在分选柱中 <i>Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 F4/80+去除的细胞</i>	上样
9	加入 FACS Buffer 洗涤柱子 3 次 <i>Note: 待柱内液体完全流空后再加下一次；S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	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 <i>Note: S 分选柱加入 1 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	收集目的细胞
11	（可选）在部分样本中，F4/80+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
<20%	小鼠脾脏	1×10^8 cells/mL	10 μ L/ 1×10^7 cells
20%-50%	处理后的样本	1×10^8 cells/mL	15 μ L/ 1×10^7 cells
>50%	腹水等	1×10^8 cells/mL	20 μ L/ 1×10^7 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	< 1×10^7 cells	< 2×10^8 cells	磁极 M1/M8	500 μ L	3 x 500 μ L
L 分选柱	< 1×10^8 cells	< 2×10^9 cells	磁极 L1/L4	3 mL	3 x 3 mL