EasyIso™ 小鼠 DN T细胞分离试剂盒

Catalog #SN4105

For processing 1x10^8 cells (SN4105S)

For processing 5x10^8 cells (SN4105M)

For processing 1x10^9 cells (SN4105L)

#Version 26.01

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极分选小鼠脾脏中的双阴性T细胞（DN T，CD3+CD4-CD8-）。分离过程中抗体和磁珠不会接触DN T细胞，能够最大限度保持DN T细胞最原始的状态。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记非DN T细胞，再将细胞和链霉亲和素纳米磁珠孵育偶联，然后通过磁极进行无柱分离。目标细胞只需倒入一个新的管中即可分离，分离后的细胞可立即用于后续应用，如流式细胞术、细胞培养和功能实验等。

- 纯度大于90%，最高可到99%
- 18-20分钟完成分离
- DN T细胞主要存在于炎症模型小鼠中，如MRL-Lpr小鼠等，健康小鼠DN T比例极低，本试剂盒不适用。

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
EasyIso™ Mouse DN T Cell Isolation Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	识别非DN T细胞抗体混合液，标记非目的细胞
EasyIso™ Streptavidin Nanobeads	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	磁珠结合非DN T细胞，通过磁极去除

BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline　运输条件： 4°C运输

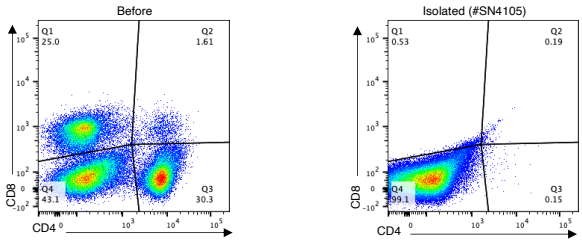
设备和试剂要求

- 缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+2% FBS+0.02% EDTA)
- 耗材：无菌流式管(适配单孔磁极#SCJ0005)或者15 mL离心管（适配磁极#SCJ0015）或者50 mL离心管（适配单孔磁极#SCJ0050）
- 仪器：离心机，磁极

温馨提示

- 小鼠脾脏研磨后采用70 μm无菌尼龙滤网过滤即可用于细胞分选，无需采用红细胞裂解液
- 建议采用英诺思生物FACS Buffer（#EISO0500），提高细胞得率和存活率。
- 自行配置的FACS Buffer，请确保渗透压稳定和低内毒素，免疫细胞较为敏感。
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

数据展示



如图：采用Immuno-X系列产品（#SN4105）分选MRL-lpr小鼠脾脏中的DN T 细胞。（A-B）分选前小鼠脾脏中DN T细胞比例约为43.1%，采用（#SN4105）分选后，T细胞高达99.1%。

操作步骤

步骤	操作说明	剂量和时间
1	取小鼠脾脏，至于70 μm无菌滤网上研磨，制备脾脏单细胞悬液。 Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数；脾细胞可以采用400 g离心5 min	制备样本
2	采用适量FACS buffer重悬细胞，制备脾脏单细胞悬液至指定浓度。 Note: 分选前样本的细胞浓度不超过1 x 10^8 cells/mL，试剂根据样品体积等比例调整； 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； 单次分选细胞量最好不低于1 x 10^7 cells，低于该数值，按照1 x 10^7 cells计算。	1 x 10^8 cells/mL
3	加入EasyIso™ Mouse DN T cell Isolation Cocktail至样品中，轻轻混匀。 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	100 μL/mL
4	Cocktail中的抗体和细胞孵育10 min	常温孵育10 min
5	震荡混匀 Streptavidin Nanobeads	混匀5-30 s
6	加Streptavidin Nanobeads至样品中	100 μL/mL
7	轻柔混匀磁珠和细胞，常温孵育5 min Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	常温孵育5 min
8	加入FACS Buffer到样品中，立即放置在磁极上，防止磁珠大量沉底。	总体积加入至2.5 mL （5 mL流式管） 总体积加入至 7.5 mL (15 mL离心管)
9	样品置于磁极上，使磁珠吸附在管壁上。	单孔磁力架吸附（3 min） 联排磁力架吸附（5 min）
10	倾斜磁力架，将样品倒入新的收集管中，收集样品 Note: 分选的细胞可采用400g 离心10分钟，用于后续培养和分析	细胞分离成功

细胞分选试剂使用剂量表(初始细胞浓度为1 x 10^8 cells/mL)

细胞总量	细胞体积	Isolation Cocktail	Streptavidin Nanobeads	磁极类型
1 x 10^7 cells	100 μL	10 μL	10 μL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^7 cells	200 μL	20 μL	20 μL	5 mL 单孔磁极
5 x 10^7 cells	500 μL	50 μL	50 μL	5 mL 单孔磁极
1 x 10^8 cells	1 mL	100 μL	100 μL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^8 cells	2 mL	200 μL	200 μL	15 mL 联排磁极
5 x 10^8 cells	5 mL	500 μL	500 μL	15 mL 联排磁极
1 x 10^9 cells	10 mL	1 mL	1 mL	50 mL 单孔磁极
2 x 10^9 cells	20 mL	2 mL	2 mL	50 mL 单孔磁极