

## EasySort™ Mouse NK Cell Isolation Kit

Cat. No: MIM005N

Size: 10/100/200 Assays

产品编号	产品名称	10 Assays	100 Assays	200 Assays	Storage
MIM005NA	EasySort™ Mouse NK Beads Streptavidin 1.0-N	210 µL	700 µL × 3	700 µL × 6	2-8°C
MIM005NB	EasySort™ Mouse NK Cell Isolation Cocktail	61 µL	610 µL	610 µL × 2	2-8°C
	说明书			1 份	

## 保存条件

2-8°C 可保存一年，避光保存，避免冻融。

## 检测原理

小鼠 NK 细胞分选是通过阴性分选法从小鼠脾脏单细胞悬液中分离出 NK 细胞。原理是选用不同的生物素（biotin）标记单克隆抗体对非目的细胞（非 NK 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，从而达到小鼠 NK 细胞分选的目的。它可以保持目的细胞未受刺激的原始状态，得到的细胞不带有任何抗体和磁珠标记。

EasySort™ Mouse NK Cell Isolation Kit 是一款能快速简便的分离出高纯度小鼠 NK 细胞的产品。本试剂盒适用于分离小鼠脾脏的 NK 细胞，分离出的细胞可直接进行下游应用。

## 自备试剂耗材及仪器

## 1. 试剂：

PBS、优质胎牛血清、EDTA

## 2. 耗材：

一次性无菌注射器、70 µm 细胞筛网、眼科剪、眼科镊、1.5 mL/2 mL EP 管、15 mL 离心管、流式管

## 3. 仪器：

光学显微镜、水平离心机、5 mL 分选磁力架

For Research Use Only

## 实验操作指南

### 以下操作需在无菌条件下进行

#### ➤ 试剂准备

分选 buffer: 含有 2 mM EDTA 和 2%胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS, 经过 0.22  $\mu\text{m}$  过滤除菌后备用。

**注:** 配制后于 4°C 冰箱中密封保存, 1 周内使用完。

#### ➤ 小鼠脾脏单细胞悬液的制备

- 取小鼠脾脏, 注意避免附带过多的结缔组织。
- 在 70  $\mu\text{m}$  细胞筛网上研磨脾脏, 用预冷的 PBS 冲洗细胞筛网, 收集细胞悬液于 15 mL 离心管, 300 $\times$ g 离心 5 min。
- 弃上清, 用分选 buffer 重悬脾细胞, 用 70  $\mu\text{m}$  细胞筛网过滤后进行细胞计数。调整细胞密度为  $2 \times 10^8$  个/mL。

**注:** 每只小鼠可获得约  $2-4 \times 10^8$  个脾脏细胞。

#### ➤ 细胞分选

- 取 50  $\mu\text{L}$  细胞悬液 ( $1 \times 10^7$  个细胞) 于 2 mL EP 管, 加入 6.1  $\mu\text{L}$  Mouse NK Cell Isolation Cocktail, 混匀后室温孵育 10-15 min。
- 孵育完成后, 加入分选 buffer 至 2 mL, 300 $\times$ g 离心 5 min, 弃上清, 再加入 50  $\mu\text{L}$  分选 buffer 重悬细胞。
- 洗涤 Beads Streptavidin 1.0-N: 将 Beads 用涡旋仪混匀 20 秒后, 取 21  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL EP 管, 放在 5 mL 分选磁力架 (自备) 静置 1 min 磁分离去除上清, 用 1 mL 分选 buffer 吹打混匀 Beads, 室温静置 5 min, 磁分离去除上清。
- 用 50  $\mu\text{L}$  细胞悬液重悬洗涤过的 Beads Streptavidin 1.0-N, 并转移至流式管底部 (**注: 避免沿管壁加入**), 混匀后室温孵育 5 min。

**注:**

✧ 如需分选更多细胞, 则在保证细胞密度不变的情况下按比例增加 Mouse NK Cell Isolation Cocktail 和 Mouse NK Beads Streptavidin 1.0-N 的用量; 如果分选少于  $1 \times 10^7$  个细胞, 则将细胞悬液体积补至 50  $\mu\text{L}$ , 加入 6.1  $\mu\text{L}$  Mouse NK Cell Isolation Cocktail 和 21  $\mu\text{L}$  洗涤过的 Mouse NK Beads Streptavidin 1.0-N。

✧ 5 mL 流式管适用分选体系小于或等于  $2 \times 10^8$  细胞悬液。

- 反应结束后添加分选 buffer 至 2.5 mL, 用移液器上下吹打 7-8 次混匀至无肉眼可见磁珠颗粒, 放在 5 mL 分选磁力架 (自备) 上静置磁吸 3 min。

**注:** 加入分选 buffer 后需充分混匀液体, 避免磁珠结块影响分选效率。

- 将细胞悬液转移至干净的离心管, 此为第一次分选得到的 NK 细胞。向流式管中添加分选 buffer

## For Research Use Only

