

死细胞清除试剂盒

Cat NO: IMP-CK001

产品描述

在细胞培养过程中，由于培养条件、操作方式的不合适等原因可能会引起部分的细胞发生凋亡，进而影响实验的效果及稳定性，通过本试剂盒中的死细胞清除剂和死细胞清除磁珠可标记发生凋亡的细胞，通过磁性分选可去除细胞培养或组织制备中的凋亡细胞，具有不依靠分选柱，操作简单的特点，在本试剂盒处理后可大大降低细胞中凋亡细胞的比例，从而改善细胞培养的效果。

适用范围

本试剂盒适用于去除凋亡的人、鼠等生物的凋亡细胞。

运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表，所有组分开封后，有效期为 6 个月。

试剂盒组成信息

表 1. 试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-CK001SA	死细胞清除剂	100 μL (50t)	2-8°C 6 个月
IMP-CK001MA		200 μL (100t)	2-8°C 6 个月
IMP-CK001SB	死细胞清除磁珠	1000 μL (50t)	2-8°C 6 个月
IMP-CK001MB		2000 μL (100t)	2-8°C 6 个月
IMP-CK001SC	死细胞结合缓冲液 (5×)	50 mL (50t)	2-8°C 6 个月
IMP-CK001MC		125 mL (100t)	2-8°C 6 个月

注：死细胞结合缓冲液 (5×) 使用前使用无菌水稀释

清除步骤



1.计数,取 1×10^7 个在培养过程中或人为诱导的发生了凋亡的细胞,将细胞悬液在离心机中以 300 g,离心 5 min,去除上清(贴壁细胞可通过吹打或用不含 EDTA 的胰酶消化的方式使细胞脱落,将细胞悬液在离心机中以 300 g,离心 5 min,去除上清),加入 500 μ L 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬细胞。

2.再次在离心机中以 300 g,离心 5 min,去除上清。

3.将细胞以 100 μ l 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬(分选少于 1×10^7 个细胞均采用 100 μ l 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬,死细胞清除剂和磁珠用量与分选 1×10^7 个细胞相同,多于 1×10^7 个细胞如 2×10^7 个细胞则需要采用 200 μ l 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬,死细胞清除剂和磁珠用量也需加倍),加入 **2 μ l 死细胞清除剂**,4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。

4.吸取 **20 μ l 死细胞清除磁珠**(吸取前涡旋振荡重悬磁珠,确保磁珠完全重悬,加入 1 mL 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬清洗磁珠,1000 g 离心 5 min,或在磁力架的磁场中吸附磁珠,弃去上清,加入 20 μ L 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬)。

5.抗体孵育完成后,加入 1 ml 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬,在离心机中以 300 g,离心 5 min,去除上清,将细胞以 100 μ l 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬,在重悬的细胞中加入清洗过的死细胞清除磁珠,混匀后 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,期间可**每隔 5 min 轻吹打细胞和磁珠混合均匀**(本方案为去除 1×10^7 个细胞中凋亡细胞的方案,在操作过程中由于分选细胞的类型以及细胞损伤的程度不同,需根据细胞状态调整试剂的用量,根据所分选的细胞类型不同,本试剂中 20 μ l 磁珠可吸附约 $5-15 \times 10^6$ 个凋亡细胞)。

6.孵育完成后,加入 2 ml 的 1 \times 死细胞结合缓冲液重悬重悬。

7.将重悬好的细胞置于磁力架中,吸附 3-5 min,待凋亡细胞被吸附完全后,可吸取未被磁场吸附的细胞即为去除凋亡细胞后的目的细胞。

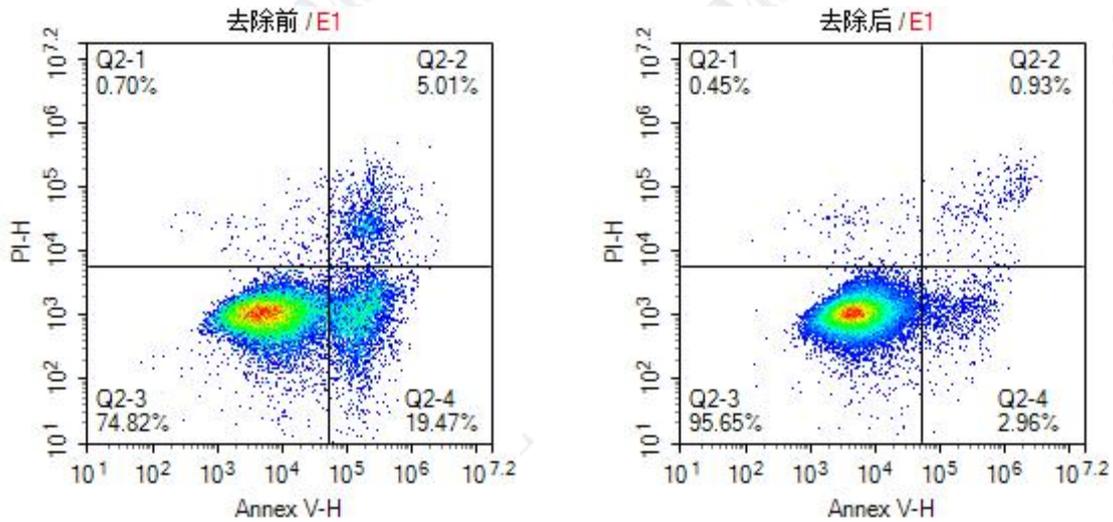
8.将分选后的细胞悬液在离心机中以 300 g,离心 5 min,去除上清,使用完全培养基重悬,可用于继续培养。

分选效果

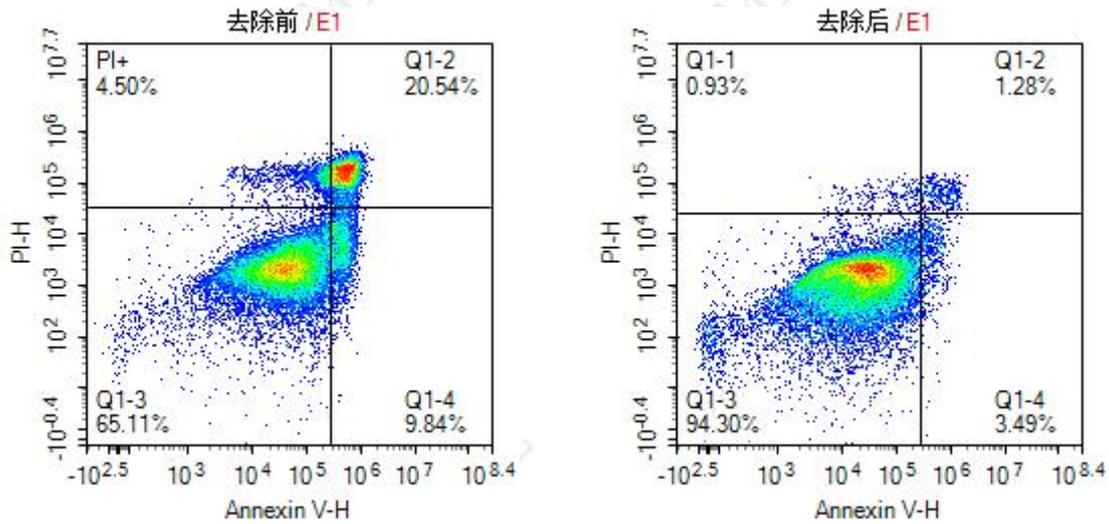
对使用本试剂盒清除前后的凋亡细胞进行流式细胞分析检测显示,分选后的 Annexin V $^+$ 和 PI $^+$ 细胞的比例大大降低。

本试剂盒分选前后悬浮细胞 THP-1 的 Annexin V $^+$ 和 PI $^+$ 细胞的流式细胞仪检测结果:





本试剂盒分选前后贴壁细胞 T24 的 Annexin V⁺和 PI⁺细胞的流式细胞仪检测结果



注意事项

1. 磁珠和抗体混合液使用和保存过程中均应避免冷冻、高速离心等操作。
2. 操作过程应在无菌环境下进行，必须保证操作过程中使用的所有容器及所有直接接触细胞液的器具严格无菌。
3. 本产品需要与磁力架配套使用。
4. 本产品仅供科研使用。

