

Human NK Cell Purification Cocktail

Catalog Number : mly005

简介

本文件描述了通过使用识别特异性细胞表面标志物的抗体，来去除非 NK 细胞的使用说明。

Human NK Cell Purification Cocktail 将人全血中的非目的细胞与多个红细胞 (RBC) 交联，形成免疫玫瑰花结。玫瑰花结使其中非目的细胞的密度增加，从而在使用密度梯度离心液进行离心时，非目的细胞会与游离的红细胞一起沉淀。目的细胞不被抗体标记，并且高度富集的目的细胞群可从血浆层和密度梯度离心液层之间轻松收集。

分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、细胞培养或 DNA/RNA 提取。

产品信息

产品货号	产品名称	规格	数量	保存条件
mly005	Human NK Cell Purification Cocktail	1 Kit	1	-20°C

实验准备

- 试剂：HSA（20%浓度），Ficoll 分离液（密度梯度离心液），DPBS, Human NK Cell Purification Cocktail。
- 耗材：移液管、离心管等。
- 收集样本：为达到最佳使用效果，请使用 24 小时内采集并在室温（15 - 25°C）下储存的全血。
- Human NK Cell Purification Cocktail：用 2mL 无菌水复溶，使用浓度：40μL Cocktail /mL 血样进行添加。

实验步骤

1.缓冲液配制：DPBS+5%HSA，如：190mL DPBS+10mL HSA（20%浓度）

2.离心管规格和液体体积：

全血体积	缓冲液体积	常规离心管	
		离心管规格	Ficoll 分离液（密度梯度离心液）体积
0.5mL	0.5mL	5mL	1.5mL
1mL	1mL	5mL	1.5mL
2mL	2mL	15mL	3mL
3mL	3mL	15mL	3mL
4mL	4mL	15mL	4mL
5mL	5mL	50mL	15mL
10mL	10mL	50mL	15mL
15mL	15mL	50mL	15mL

3.新鲜血样 NK 细胞分离纯化（不分离制备自体灭活血浆）：

- 收集样本，每管最多 15mL；
- 在样本中加入 Human NK Cell Purification Cocktail（40μL/mL）；
- 混匀后室温孵育 20min；
- 加入与样本等体积的缓冲液（DPBS+5%HSA），轻轻颠倒混匀，不可吹打；
- 将稀释的样本小心铺在密度梯度离心液上层，尽量避免两层发生混合；
- 1200g 离心 20min（缓升 1，缓降 0）；
- 小心吸取白膜层到预加洗液 20mL 的 50mL 离心管，300g，离心 10min（缓升 8，缓降 6）；弃上清，重复如上步骤再洗涤一次；

- 将细胞重悬于推荐的缓冲液中，可立即用于下游应用。

仅供科研或生产使用

4.新鲜血样 NK 细胞分离纯化（含分离制备自体灭活血浆）：

- 收集样本，每管最多 50mL；
- 全血以 1000g，离心 15 min（缓升 8，缓降 6）；获取血浆于新的 50mL 离心管中。
- 水浴锅 56°C，30min 灭活血浆，每隔 10 分钟晃动一下离心管；
- 血浆灭活后，置于-20°C存放 15min；再次离心 2100g，30min，取上层血浆至离心管，4°C保存备用；
- 将血浆提取步骤中所得的下层细胞用配制的稀释液按照 1:1 稀释（或者直接稀释至原新鲜血对应的体积），轻轻吹打混匀；
- 按照 40μL Cocktail /mL 血样进行添加（如 50mL 血样加 2mL），轻轻颠倒混匀 5 次；
- 室温孵育 20min；
- 加入与样本等体积的缓冲液（DPBS+5%HSA），轻轻颠倒混匀，不可吹打；
- 将稀释的样本小心铺在密度梯度离心液上层，尽量避免两层发生混合；
- 1200g 离心 20min（缓升 1，缓降 0）；
- 小心吸取白膜层到预加洗液 20mL 的 50mL 离心管，300g，离心 10min（缓升 8，缓降 6）；弃上清，重复如上步骤再洗涤一次；
- 将细胞重悬于推荐的缓冲液中，可立即用于下游应用。

未使用的因子应放置于-20°C冰箱保存，需要使用时，应提前放置于 4°C冰箱解冻，本产品不适用于淋巴细胞分离管，分血用普通离心管即可。