

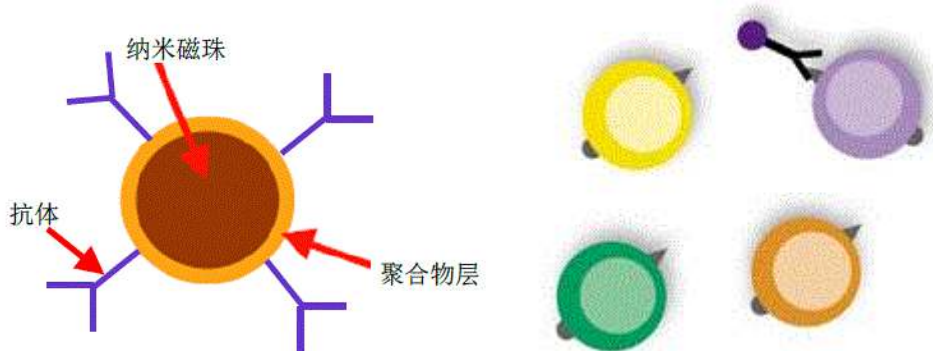
## 免疫磁珠细胞分选过程中常见问题及注意事项

细胞分选是细胞生物学、分子生物学最重要的技术方法及必要前提，根据细胞的类型及后续试验目的，目前技术比较成熟且应用较广泛的主要有：密度梯度离心法、免疫密度离心法、免疫磁珠法和流式技术等。随着科技的不断进步，相信各种方法越来越完善，同时一些新的方法也在研究之中，如微芯片 CHIP 技术。

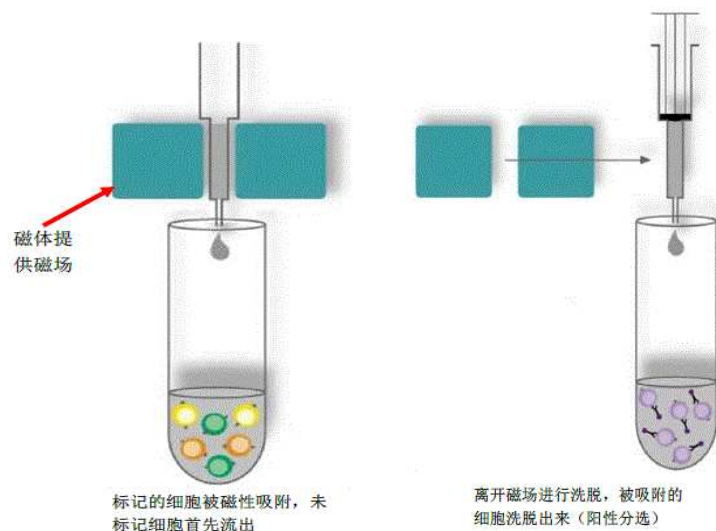
其中，免疫磁珠技术因具有特异性好、灵敏度高、分选速度快、使用方便、成本低、应用广等特点，自应用推广以来受到广泛而大量的应用，目前已经成为最主要的细胞分选方法。常见问题及注意事项如下。

### 免疫磁珠技术的原理：

- 1、基于抗体对抗原的特异性识别；
- 2、磁性微珠直接或者间接偶联在抗体上，从而与细胞相连进行标记（如下图）；



3、在高强度、梯度磁场中标记的细胞被磁性吸附，未标记细胞首先流出，然后洗脱被吸附的细胞（阳性分选）达到细胞磁性分离的目的。



## 免疫磁珠细胞分选过程中常见问题:

### 1、都能分选哪些细胞?

答: 理论上可以分选所有的细胞, 但需要根据所分选细胞的特性开发出相应抗体的磁珠。实际上, 目前市场上已经进行能够购买到几乎所有常用的细胞分选磁珠。

### 2、需要哪些设备和试剂耗材?

答: 需要的设备有: 分选器(提供磁场)、分选架(为分选器提供支撑的支架); 所需耗材有: 分选柱(细胞分离及洗脱的容器)和磁珠。根据分选方式、分选量以及操作方式可选多种类型分选器(Mini 免疫磁珠细胞分选仪、Midi 免疫磁珠细胞分选仪、Mini&Midi 免疫磁珠细胞分选仪、Super 免疫磁性细胞分选仪、Vario 免疫磁性细胞分选仪以及 autoMACSTM Pro 全自动免疫磁珠分选仪等), 其中手动方法分选最常用的是 Mini&MidiMACS 分选器, autoMACSTM Pro 全自动免疫磁珠分选仪则大量应用于医院等大量分选细胞的单位。

### 3、分选柱是否可重复使用?

答: 分选柱属耗材, 不可永久重复使用, 可处理后重复使用 2-5 次。处理方法: 将长试管注满 PBS, 回抽柱子的活塞, 倒出回抽液。倒入新的 PBS, 打出之; 重复两次——此时基本上将柱子内的杂细胞除尽。再抽、打两三次无水酒精或 95%酒精, 然后置于 50-60 度烘箱, 过夜, 即能防止生锈。

### 4、一支分选柱能分选多少细胞?

答: 根据柱子种类不同, 具体能分选的细胞数目同, 基本数量应在  $10^7 \sim 10^{10}$  间。详细信息参考说明书材料。

### 5、一瓶磁珠能使用多久? 或能分选多少细胞?

答: 一瓶 2ml 装大约可以分选  $10^9$  个细胞。

### 6、分选的细胞纯度是多少?

答: 良好的实验条件及正确的操作下, 一般的纯度都在 90%以上。

### 7、一次分选所需时间?

答: 手动操作在 30 分钟内可完成分选, 自动分选 2.5-10 分钟即可。

### 8、分选后的细胞可以进行哪些应用?

答: 分选后, 不活化细胞, 不改变细胞功能, 分选细胞活性好, 则可用于进一步的细胞培养或细胞与分子水平的分析。

## 免疫磁珠细胞分选过程中注意事项:

- 1、待分选细胞中如有贴壁细胞, 建议在分选前先贴壁培养去除, 或者提高 EDTA 浓度。
- 2、抗体包被磁珠对死细胞常有非特异性结合。因而分选前去除死细胞。
- 3、新鲜分离骨髓细胞, 先用胶原酶、DNA 酶、胰酶联合消化, 可使细胞团块解聚, 从而提高分选率。

- 4、上分离柱前，充分振荡，混悬细胞，打散细胞团块。
- 5、用分离柱分选，应用真空抽滤水，减少水中气泡，使分离柱不被气泡阻滞。
- 6、细胞悬液加入分离柱中时，应将滴管伸至底壁后加入，避免将细悬液沿管壁流入，使管壁残流未分选细胞，以致后继洗柱过程中，因疏忽未被洗下，最后导致纯度不高。洗柱时，应在前次液体充分流尽后，再加洗液。
- 7、分选细胞量应根据说明书控制，不超量。
- 8、孵育时间和温度应按说明书进行，延长孵育时间、提高温度会增加非特异结合。
- 9、先用抗体阻断 Fc 受体，可降低非特异性结合。