

## TECHNOTE 304

## 细胞分选



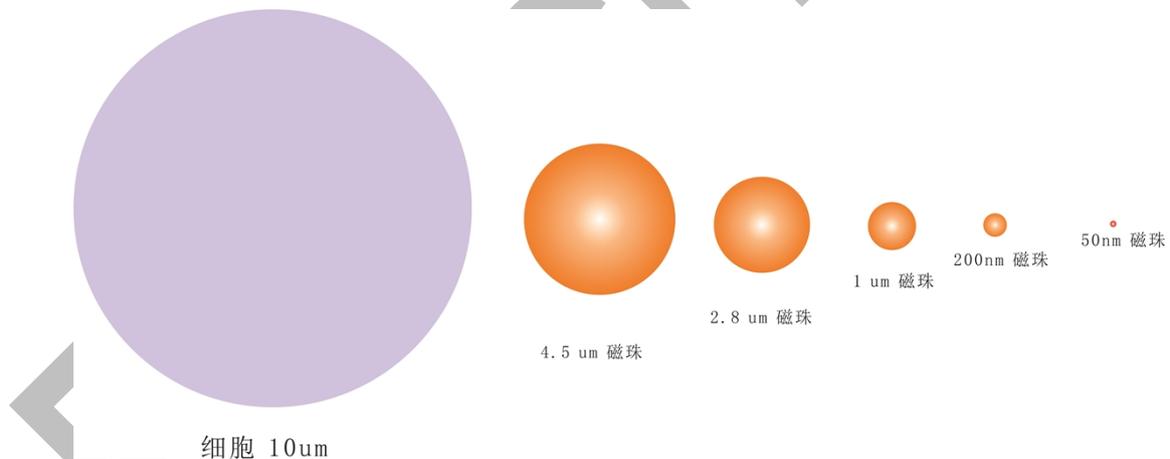
Enriching Biotechnology

Telephone: +86 021 55809378

E-mail address: marketing@bio-enriching.com

细胞分选是把一种特定细胞从多种细胞的混合样品中分离出来的过程。其中，免疫磁珠分选是细胞分选的重要方法之一，可以在几分钟内从复杂的细胞混合物中分离出很高纯度的细胞。免疫磁珠法分离细胞是基于细胞表面抗原能与连接有磁珠的**特异性单抗**相结合，在外加磁场中，通过抗体与磁珠相连的细胞被吸附而滞留在磁场中，无该种表面抗原的细胞由于不能与连接着磁珠的特异性单抗结合而没有磁性，不在磁场中停留，从而使细胞得以分离。

免疫磁珠法分为正选法和负选法：正选法—磁珠结合的细胞就是所要分离获得的细胞；负选法—磁珠结合不需要的细胞，游离于上清液的细胞为所需细胞；一般而言，负选法比正选法的磁珠用量大。



图一：适用于细胞分选的磁珠大小

磁分离细胞的重要指标是，**纯度**和**得率**，这取决于磁珠所连接**单抗的特异性**和**磁珠大小与非特异性吸附**（磁性），然而太小的磁珠得率不高，太大的磁珠又会影响细胞活性，也无法直接上流式。目前市场上有 2 种磁性细胞分离系统：**Small particles (≈50 nm)-MACS** and **Large particles (1200~4500 nm)-Dyna**，此外由 BD 公司提供大小约为 200nm 为中等大小磁珠。

小磁珠优点：对细胞温和，不影响分离细胞的后续培养，可直接上流式检测，不影响散射光，且美天尼公司开发的葡聚糖修饰的 50nm 磁性微球可以降解，对细胞毒性较小。

小磁珠缺点：需要很强的磁场来分离细胞，分离速度慢，得率不高，需要一次性的分离柱，不能在普通试管进行，成本昂贵

大磁珠优点：技术简单，分离可在试管中完成，易于增减细胞用量，速度快，得率高，成本低；

大磁珠缺点：对细胞造成机械压力，影响其生物学活性，不利于分离后培养；

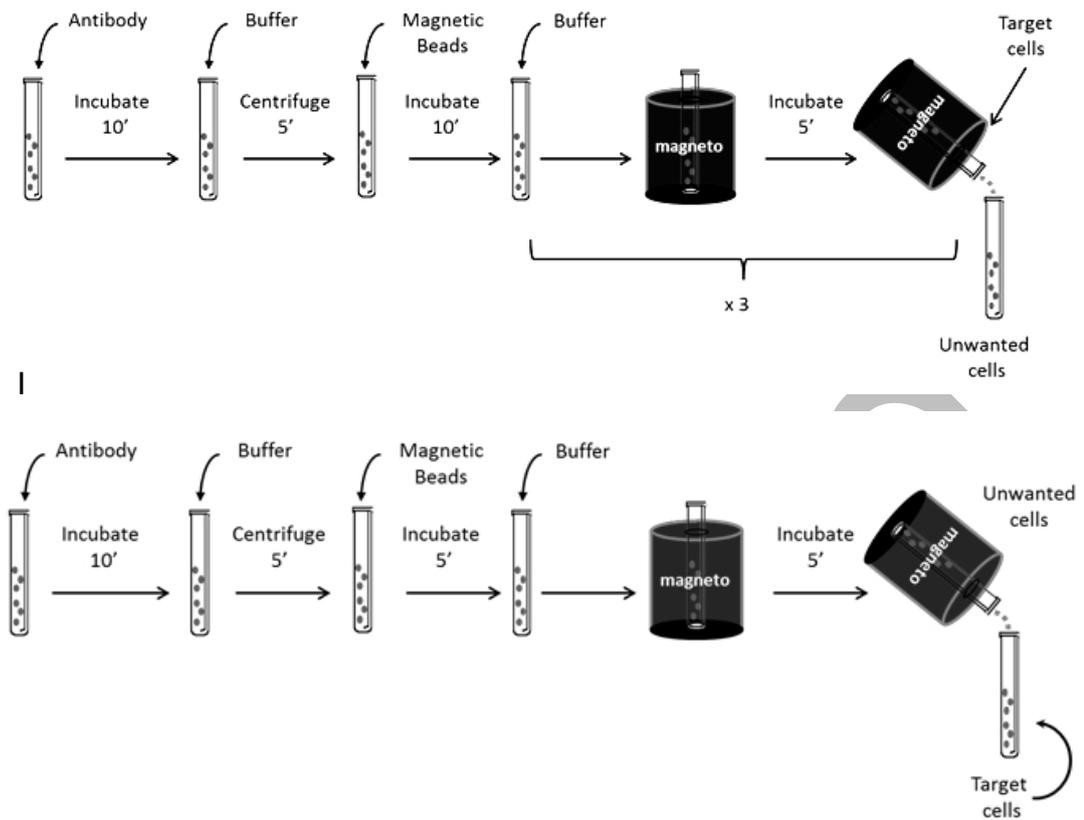
**MACS MicroBeads** 的细胞分选方法把细胞用超级顺磁性的 **MACS MicroBeads**（**MACS** 微型磁珠）特异性地标记，磁性标记完后，把这些细胞通过一个放在强而稳定磁场中的分选柱。分选柱里的基质造成一个高梯度磁场。被磁性标记的细胞滞留在柱里而未被标记的细胞则流出。当分选柱移出磁场后，滞留柱内的磁性标记细胞就可以被洗脱出来，这样就完全可以获得标记和未标记的两个细胞组份。超顺磁性的 **MACS MicroBeads** 的体积很小，其直径约为 **50nm**，体积约小于真核细胞的一百万分之一，可与病毒的大小相比。标记细胞上的微型磁珠即使在扫描电镜照片上也几乎看不到。磁性抗体和磁性标记物间的反应可在几分钟内完成。

由于微型磁珠的体积极小，所以不会对细胞造成机械性压力，而且使孵育时间短，操作过程快。**MicroBeads** 形成一个稳定的胶体液，它们在磁场中既不沉淀又不凝聚。微型磁珠的大小和它的组成成份（氧化铁和多糖）使其可被生物降解，且不会激活细胞或影响细胞的功能和活力，细胞的生理功能也不变。磁珠不需要去除，因此，阳性分选出的细胞（即磁性标记细胞）可立即用于分析和随后的实验。用 **MACS** 细胞分选系统可以分离出非常纯的细胞群体，而且有极好的回收率和存活率。依据细胞频率和标记表达水平的不同，**MACS** 分离细胞的纯度可达 **95%-99.9%**，回收率 **>90%**。

举例：

1.阳性分选：运用特异性抗体偶联磁珠直接从细胞混合物中分离目的细胞的分选方法称为阳性分选。阳性分选中磁珠标记的细胞即为目的细胞。该方法简单、快速、细胞得率和纯度较高。

2.阴性分选：用抗体偶联磁珠去除无关细胞，使得目的细胞得以纯化和分离的方法叫阴性分选。例如分离 **CD4+T** 细胞时，由于没有专门的 **CD4+T** 细胞分选磁珠，可通过 **Anti-CD8**、**anti-B220**、**anti-CD49b**、**anti-CD11b**、**anti-Ter119** 标记磁珠去除 **CD8+T** 细胞、**B** 细胞、**NK** 细胞、**DC** 细胞、巨噬细胞、粒细胞等，最终获得较纯的 **CD4+T** 细胞。



图二：正选和负选流程

**Enriching Beads®** 磁性聚合物微球提供 1~5um 免疫磁珠（与 Dynal 类似）以及 50~200nm 可降解的磁性葡聚糖微球（与 Miltenyi 类似），表面修饰有氨基、羧基、PEG 修饰羧基、环氧基、等加长臂基团，帮助更好磁珠法分选细胞。