

小鼠 CD4⁺T 细胞分选试剂盒（阴选法）

货号：RK50105

◆ 产品简介

小鼠 CD4⁺T 细胞分选试剂盒（阴选法）是通过阴性分选法从小鼠脾脏细胞或其它组织的单细胞悬液中分离出 CD4⁺T 细胞。原理是选用不同的生物素（biotin）标记单克隆抗体对非目标细胞（非 CD4⁺T 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 CD4⁺T 细胞分选的目的。

该试剂盒分选过程中需要用到磁力架（建议使用适配 5mL 流式管的磁力架，磁场强度需要大于 7000Gs，如 ABclonal AI20025）。

◆ 产品信息

组分名称	10T 规格	50T 规格	100T 规格
Biotin CD4-Antibody Mix(mouse)	20 μ L	100 μ L	200 μ L
Streptavidin 磁珠	0.2 mL	1 mL	2 mL

*此处 T 规格对应每 1×10^7 总细胞所用的试剂总量，实际使用时需根据细胞数量和实验需求调整试剂用量，可参

考注意事项 1。

◆ 保存条件

2°C~8°C 保存（不可冷冻）。

◆ 操作步骤

以分选小鼠脾脏 CD4⁺T 细胞为例。

一、制备脾脏单细胞悬液：

1. 在 70 μ m 细胞筛网上研磨脾脏，以预冷的 PBS 冲洗细胞筛网，收集细胞悬液于 50 mL 离心管中，500 g，离心 5 min。
2. 离心结束，弃上清，加入红细胞裂解液，室温裂解。
3. 离心洗涤，再次过细胞筛。离心重悬，计数后离心，用分选 buffer 重悬，调整总细胞密度为 1×10^8 cells/mL。

*分选 Buffer: 含 2 mM EDTA 和 2% FBS (或 0.5% BSA) 的 PBS。

二、磁珠分选:

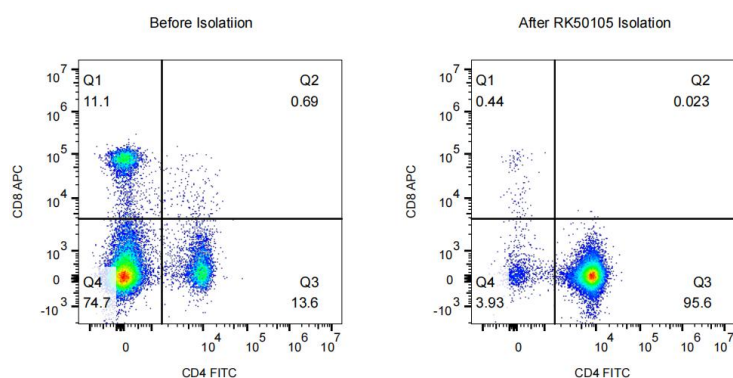
1. 取 100 μ L 细胞悬液 (含 1×10^7 cells) 直接加入到流式管底部 (不要沿管壁加), 再加入 2 μ L Biotin-Antibody Mix, 混匀后 4°C 孵育 10 min。
2. 孵育完成后, 加入 20 μ L 清洗过的 Streptavidin 磁珠, 混匀后 4°C 孵育 10 min。

*清洗 Streptavidin 磁珠: 涡旋振荡, 重悬磁珠, 吸取所需体积的磁珠至离心管中, 加入 1 mL 分选 Buffer。10000 g, 离心 1 min, 弃上清。重复 1 次 (共清洗两次), 然后用原磁珠体积的分选 Buffer 进行重悬。

3. 孵育完成后, 在流式管中加入 2.5 mL 分选 Buffer, 吹打混匀 (避免剧烈震荡或上下颠倒)。
4. 将流式管至于磁力架上, 静置 5 min。随后缓缓将离心管倾斜, 细胞悬液转移至新的无菌离心管中 (整个过程离心管不要脱离磁力架, 轻柔操作), 新离心管中收集到的细胞悬液即为分离纯化的小鼠 CD4⁺T 细胞。
5. 500 g, 离心 5 min。根据实验需要洗涤细胞, 然后重悬于相应缓冲液或培养基中备用, 进行后续实验。

◆ 分选效果

从 C57BL/6 小鼠脾脏细胞中分选 CD4⁺T 细胞:



左图: 分选前的细胞用 CD4 抗体 (A24907) 和 CD8 抗体 (A27839) 进行检测, CD4⁺T 细胞比例为 13.60%。

右图: 经过 RK50105 试剂盒分选后的细胞用 CD4 抗体 (A24907) 和 CD8 抗体 (A27839) 进行检测, CD4⁺T 细胞比例为 95.60%。

◆ 注意事项

1. 可根据要分选的细胞数按比例调整用量, 参考下表:

分选细胞数 (cells)	细胞悬液体积 (μL)	Biotin-Antibody Mix 体积 (μL)	Streptavidin 磁珠体积 (μL)
1x10 ⁷	100	2	20
5x10 ⁷	500	10	100

*若分选少于 1x10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL Biotin-Antibody Mix 和 20 μL Streptavidin 磁珠。

2. 建议使用低吸附移液器枪头盒离心管，降低磁珠与抗体的损耗。

◆ 其他磁珠分选试剂盒产品

货号	产品名称
RK50106	小鼠 CD8+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50107	小鼠 CD3+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50108	小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阳选法）
RK50109	小鼠 CD8+T 细胞分选试剂盒（阳选法）
RK50030	人 CD3+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50031	人 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50032	人 CD8+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50033	人 CD34+细胞富集试剂盒（阴选法）