

小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阳选法）

货号：RK50108

◆ 产品简介

小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阳选法）适用于从小鼠脾脏细胞或其它组织的单细胞悬液中分选出 CD4+T 细胞。原理是利用 CD4 Capture Antibody 对 CD4+细胞进行标记,然后通过 Releasable Beads 对目标细胞进行捕获,再用 Beads Release Buffer 将磁珠从细胞表面解离，从而得到无磁珠标记的小鼠 CD4+T 细胞。分选得到的 CD4+T 细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

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	100T 规格
CD4 Capture Antibody	20 μ L	200 μ L
Releasable Beads	0.2 mL	2 mL
Beads Release Buffer	4 mL	40 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（必须计数）。然后再次离心，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:

以下步骤以 5T (分选 5×10^7 cells) 规格用量进行操作，若分选其他细胞数量，参见注意事项 1。

1. 取 500 μ L 细胞悬液 (含 5×10^7 cells) 直接加入到流式管底部 (不要沿管壁加)，再加入 10 μ L CD4 Capture Antibody，混匀后 4°C 孵育 15 min。
2. 孵育完成后，加入 100 μ L 清洗过的 Releasable Beads，混匀后 4°C 孵育 15 min。

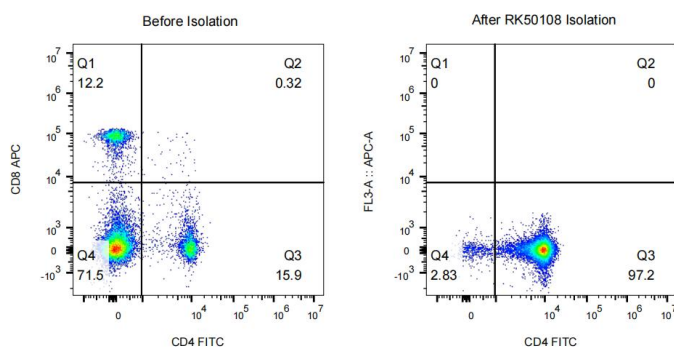
**清洗 Releasable Beads: 涡旋振荡，重悬磁珠，吸取所需体积的磁珠至离心管中，加入 1 mL 分选 Buffer。10000 g，离心 1 min，弃上清。重复 1 次 (共清洗两次)，然后用原磁珠体积的分选 Buffer 进行重悬。*

3. 孵育完成后，在流式管中加入分选 Buffer 至 2.5 mL，吹打混匀 (避免剧烈震荡或上下颠倒)。将流式管至于磁力架上，静置 5 min。
4. 小心吸弃上清 (保持流式管在磁力架上)，将流式管从磁力架上取下，迅速加入 2 mL 分选 Buffer (避免磁珠干燥)，用移液器反复吹打，然后将流式管至于磁力架上，静置 5 min。
5. 重复第 4 步两次。
6. 小心吸弃上清 (保持离心管在磁力架上)，将流式管从磁力架上取下，迅速加入 1 mL Beads Release Buffer 重悬磁珠 (避免磁珠干燥)。将磁珠悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 min。
7. 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，然后转移至新的流式管中，补加分选 Buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，将流式管置于磁力架，静置 5 min。
8. 吸取上清转移到 15 mL 离心管中备用 (此上清为目的细胞，不可丢弃)，迅速用 1 mL Beads Release Buffer

- 重悬磁珠（避免磁珠干燥）。将磁珠悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 min。
9. 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，然后转移至新的流式管中，补加分选 Buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，将流式管置于磁力架，静置 5 min。
10. 吸取上清，与第 8 步的上清液合并，500 g，离心 5 min。根据实验需要洗涤细胞，然后重悬与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 15.90%。

右图：经过 RK50108 试剂盒分选后的细胞用 CD4 抗体（A24907）进行检测，CD4⁺T 细胞比例为 97.20%。

◆ 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)	CD4 Capture Antibody 体积 (μL)	Releasable Beads 体积 (μL)	Beads Release Buffer 体积 (μL)
1x10 ⁷	100	2	20	200
5x10 ⁷	500	10	100	1000

*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 CD4 Capture Antibody 和 20 μL

Releasable *Beads*, 解离时加入 200 μ L *Beads Release Buffer*。

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
RK50105	小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
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）
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）