

# 小鼠 CD4<sup>+</sup>细胞分选试剂盒

## 产品描述:

小鼠 CD4<sup>+</sup>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<sup>+</sup>细胞。原理是利用 CD4 Capture Antibody 对 CD4<sup>+</sup>细胞进行标记, 然后通过 Releasable-Beads 对目标细胞进行捕获, 再用 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<sup>+</sup>细胞。分选得到的 CD4<sup>+</sup>细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

## 规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-802-100 规格 (For 1×10 <sup>9</sup> cells)	Cat.No.:RG11-802-200 规格 (For 2×10 <sup>9</sup> cells)
CD4 Capture Antibody	200 μL	400 μL
Releasable-Beads	2 mL	4 mL
Release Buffer	40 mL	80 mL

**储存条件:** 2-8°C 保存, 不可冷冻, 有效期见试管标签。

**适用范围:** 本试剂盒适用于分选小鼠淋巴器官, 如脾脏和淋巴结中的 CD4<sup>+</sup>细胞。

## 设备和试剂要求:

缓冲液: FACS Buffer ( 不含钙镁离子的 PBS+2 mM EDTA+2% FBS )

无菌红细胞裂解液、计数液

耗材: 70 μm 无菌尼龙滤网、离心管、无菌流式管

仪器: 离心机、磁力架

## 样本制备:

小鼠脾脏:

1. 在 70 μm 细胞筛网上研磨脾脏, 用预冷的 PBS 冲洗筛网, 收集细胞悬液于 50 mL 离心管中, 500 g 离心 5 分钟。
2. 离心结束, 弃上清, 加 5 mL 红细胞裂解液 (ACK), 室温裂解 5 分钟, 再加入 20 mL PBS, 500 g 离心 5 分钟。
3. 离心结束, 弃上清, 将脾细胞重悬于 500 μL Buffer 中, 计数。计数后用 Buffer 以 1×10<sup>8</sup> 细胞/mL 的浓度重悬细胞。

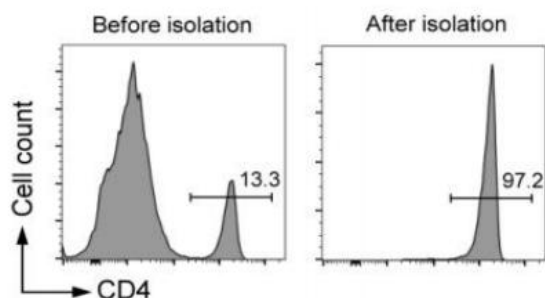
## 温馨提示:

1. 红细胞裂解可根据所用裂解液不同调整用量及时间, 少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。
2. 分选样本需为单细胞悬液, 若裂红后仍有组织和细胞团块, 需要再过一次 70 μm 细胞筛网后再计数, 否则会影响后续细胞分选纯度。
3. 5 mL 流式管分选范围为 1×10<sup>7</sup> cells 至 2×10<sup>8</sup> cells, 此范围内分选效果最佳。

## 操作步骤:

步骤	说明	剂量和时间
1	将制备好的单细胞悬液转移至 5 mL 流式管	$1 \times 10^8$ cells/mL
2	加入 CD4 Capture Antibody 至细胞悬液	20 $\mu$ L/mL
3	轻轻吹打混匀抗体和细胞, 孵育	4°C, 孵育 15 min
4	涡旋震荡磁珠 (Releasable-Beads) 30s 后, 取步骤 5 中需要用的磁珠用量至 1.5 mL 离心管, 加入 1 mL Buffer, 离心清洗磁珠, 洗两次	10000 g, 离心 1 min
5	加入清洗过的 Releasable-Beads 混悬液至细胞悬液	200 $\mu$ L/mL
6	轻轻吹打混匀磁珠和细胞, 孵育	4°C, 孵育 15 min
7	加入 Buffer 到样品中定容至指定体积	定容至 2.5 mL
8	吹打混匀后, 将样品 (不带盖) 置于磁力架上, 使磁珠吸附	室温静置 5 分钟
9	吸出并丢弃上清液	流式管壁上即为 CD4 <sup>+</sup> 细胞
10	在原流式管里迅速加入 2 mL 分选 Buffer, 用移液器反复吹打分散磁珠后, 将流式管置于磁力架上, 静置 5 min, 以彻底清洗保证目的细胞的高纯度。	重复清洗 2 次
11	吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下, 迅速加入 Release Buffer 重悬磁珠	2mL/ $1 \times 10^8$ cells
12	将磁珠悬液转移至 2 mL 离心管中	室温旋转孵育 10 min
13	用移液器反复吹打至少 10 次, 并将悬液转移至 5 mL 流式管, 补加 Buffer 到样品中定容至指定体积	定容至 2.5 mL
14	吹打混匀后, 将样品 (不带盖) 置于磁力架上, 使磁珠吸附	室温静置 5 分钟
15	手持磁力架, 将细胞悬液轻柔倒入无菌 15mL 离心管中	此细胞悬液中即包含无磁珠标记的小鼠 CD4 <sup>+</sup> 细胞
16	重复步骤 11-15, 将上清液与第一次洗脱后的上清液混合	此为目的细胞悬液

## 分选效果:



从 BALB/c 小鼠脾脏细胞中分选 CD4<sup>+</sup>细胞, 用 PE 标记的 anti-mouse CD4 抗体 (克隆号 RM4-4) 染色后进行流式细胞分析, 分选前后的 CD4<sup>+</sup>细胞纯度分别为 13.3%和 97.2%。