

小鼠 CD4⁺T 细胞分选试剂盒

产品描述:

小鼠 CD4⁺T 细胞分选试剂盒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的细胞 (非 CD4⁺T 细胞) 进行标记, 而后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠去除非目标细胞, 从而达到小鼠 CD4⁺T 细胞分选的目的。分选过程需要用到磁极或者磁力架。

规格和组分:

组分名称	Cat.No.:RG11-902-100 规格 (For 1×10 ⁹ cells)	Cat.No.:RG11-902-50 规格 (For 5×10 ⁸ cells)
Biotin-Antibody Mix	200 μL	100 μL
Streptavidin-Beads	2 mL	1 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脾脏和淋巴结样本。

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 1×10⁸ 细胞/mL 的浓度重悬细胞。

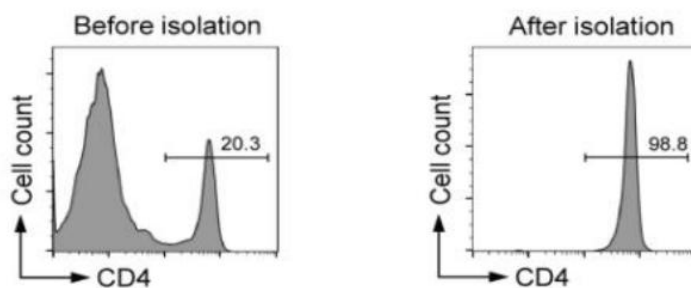
温馨提示:

1. 建议选用低吸附移液器吸头和离心管, 避免因吸附造成磁珠和抗体的损耗。
2. 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。
3. 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。
4. 5 mL 流式管分选范围为 1×10⁷ cells 至 2×10⁸ cells, 此范围内分选效果最佳。
5. 确保每一步无菌操作, 谨防污染。

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	1×10^8 cells/mL
2	加入 Biotin-Antibody Mix 至细胞悬液	20 μ L/mL
3	轻轻吹打混匀抗体和细胞, 孵育	4°C, 孵育 10 min
4	涡旋震荡磁珠 (Streptavidin-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 Streptavidin-Beads 混悬液至细胞悬液	200 μ L/mL
6	轻轻吹打混匀磁珠和细胞, 孵育	4°C, 孵育 10 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	手持磁力架, 将细胞悬液轻柔倒入无菌离心管中	此细胞悬液中即为纯化的 CD4 ⁺ T 细胞

分选效果:



从 C57BL/6 小鼠脾脏细胞中分选 CD4⁺T 细胞, 分选前后的细胞用 FITC anti-mouse CD4 抗体 (克隆号 GK1.5) 标记后进行流式细胞分析, 分选前后的 CD4⁺T 细胞纯度分别为 20.3% 和 98.8%。