

TBD小鼠 CD4⁺细胞分选试剂盒（阳选法）

产品简介

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

产品信息

组分	规格（For 10 ⁹ cell）
CD4 Capture Antibody	200 μL
TBD-Releasable	2 mL
TBD-Release Buffer	40 mL

储存条件及有效期

2-8°C 保存，不可冷冻。

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⁺细胞。

操作流程

以分选小鼠脾脏 CD4⁺细胞为例：

- 制备单细胞悬液：在 70 μm 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。
- 离心结束后，弃上清，加入 5 mL 红细胞裂解液（ACK），室温裂解 5 min，再加入 20 mL PBS，500 g，离心 5 min。

注意：少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。

- 离心完成后，弃上清，将脾细胞重悬于 PBS，细胞悬液用 70 μm 细胞筛网过滤后，计数。计数完成后，500 g，离心 5 min。

注意：细胞悬液需要用细胞筛网过滤，以除去组织和细胞团块，否则会影响后续细胞分选纯度。

- 离心完成后，弃上清，将细胞重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1×10⁸ cells/mL。

注意：分选 buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS 或者含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS，需预先通过 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

- 将 500 μL 细胞悬液（5×10⁷ 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 10 μL CD4 Capture Antibody，混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意：将细胞悬液直接加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架不同也可使用离心管进行细胞分选。分选其它数量细胞时可则按比例调整 CD4 Capture Antibody 的用量。如果分选少于 1×10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL CD4 Capture Antibody。

- 孵育完成后，在流式管中加入 100 μL 清洗过的 TBD-Releasable，混匀后 4°C 孵育 10 min（**磁珠使用前用分选 buffer 清洗**：涡旋振荡重悬磁珠，吸取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入 1 mL 分选 buffer，10000 g 离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 buffer 重复洗涤磁珠 1 次后用与原来相同体积的分选 buffer 重悬磁珠。如吸取 20 μL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μL 分选 buffer 进行重悬）。

注意：分选其它数量细胞时可则按比例调整 TBD-Releasable 的用量。如果分选少于 1×10⁷ 个细胞，使用 20 μL TBD-Releasable。

- 孵育完成后，在流式管中加入 2 mL 分选 buffer，用移液器吹打 5 次混匀（避免上下颠倒混匀）。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。
- 吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下，迅速加入 2 mL 分选 buffer 重悬磁珠，避免磁珠干燥。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。
- 重复步骤 8 一次（清洗步骤可以保证获得高纯度的目的细胞）。
- 磁吸结束后，吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下，迅速加入 1 mL TBD-Release

buffer 重悬磁珠，避免磁珠干燥，将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 分钟。

注意：分选其它数量细胞时可则按比例调整 TBD-Release buffer 的用量。如果分选少于 1×10⁷ 个细胞，使用 200 μL TBD-Release buffer 洗脱细胞。

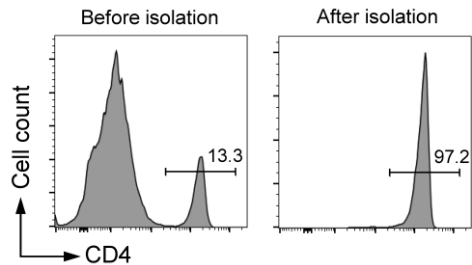
- 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，置于磁力架上，静置 5 分钟。
- 将上清液转移到一个新的流式管中备用（**上清中含有目的细胞，不要丢弃**）。迅速用 1 mL TBD-Release buffer 重悬磁珠，避免磁珠干燥，将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中，室温旋转孵育 10 分钟。
- 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，置于磁力架上，静置 5 分钟。
- 将上清液与第一次洗脱后的细胞上清液混合，置于磁力架上，静置 5 min，去除残留磁珠。
- 将上清液转移至离心管中，500 g，离心 5 min，弃上清，即可收集到无磁珠标记的 CD4⁺细胞。
- 根据实验需要洗涤细胞后，将细胞重悬于所需缓冲液或培养基中，可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

分选效果

从 BALB/c 小鼠脾脏细胞中分选 CD4⁺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⁺细胞纯度分别为 13.3% 和 97.2%。

注意事项

- 试剂盒各组分使用和保存过程中应避免冷冻；
- 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；
- 本产品需与磁力架配套使用；
- 本产品仅供研究使用。



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

