

TBD小鼠 CD4+ T 细胞分选试剂盒

产品简介

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。分选过程需要用到磁力架。

产品信息

组分	规格（For 10 ⁹ cell）	规格（For 5 ×10 ⁸ cell）
Biotin-Antibody Mix	200 μL	100 μL
TBD-Streptavidin	2 mL	1 mL

储存条件及有效期

2-8℃ 保存，不可冷冻。

适用范围

本试剂盒适用于分选小鼠脾脏和淋巴结 CD4+ T 细胞。

操作流程

以分选小鼠脾脏 CD4+T 细胞为例：

- 1. 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。
- 2. 离心结束，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：红细胞裂解步骤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. 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：细胞悬液需要过细胞筛网，以除去组织和细胞团块，否则会影响后续细胞分选纯度。

- 4. 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。

- 5. 将 100 μL 细胞悬液（1×10⁷ 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 2 μLBiotin-Antibody Mix，混匀后 4℃ 孵育 10 min。

注意：加入细胞悬液时将细胞加入流式管底部，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。如果分选更多细胞，则按比例增加 Biotin-Antibody Mix 的用量。

- 6. 孵育完成后，在流式管中加入 20 μL 清洗过的 TBD-Streptavidin（磁珠使用前需要用分选buffer 进行清洗：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），混匀后 4℃孵育 10 min。

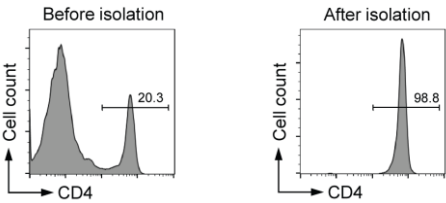
注意：如果分选更多细胞，则按比例增加 TBD-Streptavidin 用量。例如分选 5×10⁷ 个细胞，在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μLBiotin-Antibody Mix 和 100 μLTBD-Streptavidin。如果分选少

于 1×10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μLBiotin-Antibody Mix 和 20 μLTBD-Streptavidin。

- 7. 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分选 buffer，用移液器上下混合吹打 5 次混匀（避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀）。
- 8. 将含有细胞的分选流式管置于磁力架上，静置 5 min。
- 9. 将细胞悬液轻柔倒入一个无菌离心管中（倾倒过程中流式管不要脱离磁力架），此细胞悬液中即包含纯化的小鼠 CD4+ T 细胞，500 g，离心 5 min。离心后弃上清，收集细胞。
- 10. 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，即可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

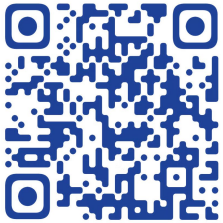
分选效果

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仪分析，分选前后的 CD4+ T 细胞纯度分别为 20.3% 和 98.8%。



注意事项

- 1. 磁珠和抗体混合液使用和保存过程中应避免冷冻；
- 2. 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；
- 3. 本产品需与磁性分离器配套使用；
- 4. 本产品仅供研究使用。



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

