

Mouse CD4+T Cell Isolation Kit (Negative Isolation)

小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选）

产品简介

翌圣小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选）是通过阴性分选法从小鼠淋巴结、脾脏及其混合样本中分离、纯化 CD4+T 细胞。其原理是选用生物素（biotin）标记单克隆抗体 Cocktail 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，从而得到无磁珠标记的小鼠 CD4+T 细胞。

产品特点

操作简单：无需分选柱，使用磁性分离器即可实现目的细胞的分离。

纯度高：分选细胞纯度可达 95% 以上；

活性好：阴性分选，磁珠不与细胞直接接触，分选后细胞无异常激活，不影响下游实验。

速度快：15 分钟即可分选得到目的细胞。

产品信息

编号	组分名称	37657ES10 (10 T) 分选能力：Up to 1×10^8 cells	37657ES50 (50 T) 分选能力：Up to 5×10^8 cells	37657ES60 (100 T) 分选能力：Up to 1×10^9 cells
37657-A	Mouse CD4+T Cell Negative Antibody Cocktail	20 μ L	100 μ L	200 μ L
37657-B	Streptavidin Magnetic Beads	0.2 mL	1 mL	2 mL

储存条件

2~8°C 保存，有效期 1 年，**严禁冻存**。

使用说明

1. 所需材料准备

1) 分离缓冲液：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 μ m 滤膜过滤除菌。

2) 分选材料和分离器：无菌流式管或离心管，磁性分离器。

2. 细胞分选，以分选小鼠脾脏 CD4+T 细胞为例：

1) 制备单细胞悬液：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，2000 rpm（500 g），离心 5 min。

2) 离心结束，弃上清，加入 5 mL 红细胞裂解液，吹打混匀，室温裂解 5 min，再加入 20 mL PBS 终止反应，2000 rpm（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 μ m 细胞筛网过滤后，计数。计数完成后，2000 rpm（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，将细胞重悬于分离缓冲液中，调整细胞密度为 1×10^8 cells/mL。

5) 吸取 100 μ L 细胞悬液 (1×10^7 cells) 加入无菌流式管底部，再加入 2 μ L Mouse CD4+T Cell Negative Antibody Cocktail (37657-A)，混匀后 4°C 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 Mouse CD4+T Cell Negative Antibody Cocktail (37657-A) 的用量。

6) 孵育完成后，在流式管中加入 20 μ L 清洗过的 Streptavidin Magnetic Beads (37657-B)，混匀后 4°C 孵育 10 min。

注意：磁珠使用前需用分离缓冲液进行清洗：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 分离缓冲液，10000 g 离心 1min，弃上清。加入 1 mL 分离缓冲液重复洗涤磁珠 1 次后用与原来相同体积的分离缓冲液重悬磁珠。如吸取 20 μ L 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μ L 分离缓冲液进行重悬）。

如果分选更多细胞，则按比例增加 Streptavidin Magnetic Beads (37657-B) 用量。

如果分选少于 1×10^7 cells，则将细胞悬液体积补至 100 μ L，加入 2 μ L Mouse CD4+T Cell Negative Antibody Cocktail (37657-A) 和 20 μ L Streptavidin Magnetic Beads (37657-B)。

7) 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分离缓冲液，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，2000 rpm (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。

注意事项

1. Negative Antibody Cocktail 和 Streptavidin Magnetic Beads 使用和保存过程中应避免冷冻；
2. 建议选用低吸附离心管和吸头，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. 本产品仅作科研用途！
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。