

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

小鼠 CD4⁺ 细胞分选试剂盒 (阳选)

Mouse CD4⁺ Cell Isolation Kit (positive selection)

产品描述

TargetMol 的小鼠 CD4⁺ 细胞分选试剂盒 (阳选) 提供超顺磁性微珠, 共价包被单克隆抗体, 对主要表达于鼠辅助性/诱导性 T 细胞的 CD4 膜抗原具有特异性, 原理是利用 CD4 Capture Antibody 对 CD4⁺ 细胞进行标记, 然后通过 Releasable Beads 对目标细胞进行捕获, 再用 Beads 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。这种快速、温和的分离方法无需使用色谱柱且有助于确保分离出的 CD4⁺ 细胞的纯度、回收率和存活率都很高。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。

细胞分选的产品推荐

1. 小鼠细胞

	脾脏	淋巴结	外周血	骨髓	肿瘤组织
CD3 ⁺ T 细胞	C0061		/	/	/
CD4 ⁺ 细胞	C0062 (首选), C0067 (可选)		C0067	/	C0067
CD8 ⁺ 细胞	C0063 (首选), C0068 (可选)		C0068	/	C0068
中性粒细胞	C0064	/	C0064	C0064	/

2. 人源细胞

	外周血	脐带血
CD3 ⁺ T 细胞	C0065	/
CD34 ⁺ 细胞富集	C0066	C0066
CD4 ⁺ T 细胞	C0148	/
CD8 ⁺ T 细胞	C0149	/
CD3/CD28 T 细胞激活	C0150	/
CD66b ⁺ 细胞	C0151	/

产品特点

1. 纯度高, 可达 95%以上。
2. 样本适用性广, 可从 PBMC 或者全血中直接捕获目的细胞。
3. 磁珠释放技术使得细胞不含微珠, 不影响下游实验。

产品应用

- 适用从小鼠淋巴器官或其他组织, 如脾脏和淋巴结中分选 CD4⁺细胞。

产品组成

产品编号	产品名称	产品包装 (for 1×10 ⁹ cells)
C0067-1	CD4 Capture Antibody	200 μL
C0067-2	Releasable Magnetic Beads	2 mL
C0067-3	Magnetic Beads Release Buffer	40 mL

操作说明

以分选小鼠脾脏中的 CD4⁺ T 细胞为例:

1. 制备单细胞悬液: 将脾脏放置在 70 μm 的细胞筛网上研磨, 并用预冷的 PBS 冲洗筛网, 将细胞悬液收集至 50 mL 离心管中, 500 g 离心 5 min。
2. 离心结束后, 弃去上清液, 加入 5 mL 红细胞裂解液 (ACK) 并在室温下裂解 5 min。随后加入 20 mL PBS, 500 g 离心 5 min。
注: 红细胞裂解的时间和用量可根据所用裂解液进行调整, 少量红细胞的残留对后续分选和细胞纯度影响不大。
3. 离心结束后, 弃去上清液, 将脾细胞重悬于 PBS 中, 并用 70 μm 的细胞筛网过滤。细胞计数完成后, 再次以 500 g 离心 5 min。
注: 为避免组织碎片和细胞团块影响后续分选的纯度, 细胞悬液需经过细胞筛网过滤。

- 离心结束后，弃去上清液，将细胞重悬于分选缓冲液中，并调整细胞浓度至 1×10^8 个细胞/mL。
注：分选缓冲液推荐配方：PBS，含有 2 mM EDTA 和 2% FBS；或 PBS，2 mM EDTA 和 0.5% BSA。缓冲液需预先经 0.22 μ m 滤膜过滤灭菌。
- 将 500 μ L 的细胞悬液（含 5×10^7 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 10 μ L CD4 Capture Antibody，混匀后在 4°C 下孵育 15 min。
注：将细胞加入流式管底部时，避免沿管壁添加。若分选更多细胞，CD4 Capture Antibody 的用量需按比例增加。根据磁力架的不同，也可使用离心管进行细胞分选。
- 磁珠预处理：涡旋振荡重悬磁珠，将所需量的磁珠移至 1.5 mL 离心管中，加入 1 mL 分选缓冲液，10000 g 离心 1 min，弃去上清。重复以上洗涤步骤一次。加入与原体积相同的分选缓冲液重悬磁珠。若使用 20 μ L 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μ L 分选缓冲液重悬。
- 细胞孵育结束后，在流式管中加入 100 μ L 经过预处理的 Releasable Magnetic Beads，混合均匀，4°C 下孵育 15 min。
注：若分选的细胞数量较多，Releasable Magnetic Beads 的用量需按比例增加。若分选的细胞少于 1×10^7 个，则应将细胞悬液体积补至 100 μ L，并加入 2 μ L CD4 Capture Antibody 和 20 μ L Releasable Magnetic Beads。
- 孵育结束后，在流式管中加入 2.5 mL 分选缓冲液，用移液器轻轻吹打混匀 5 次，避免剧烈振荡或上下颠倒混匀。将装有细胞的流式管置于磁力架上静置 5 min。
- 弃去上清液。从磁力架取下流式管，迅速加入 2 mL 分选缓冲液，使用移液器多次轻轻吹打以重新分散磁珠。然后将流式管重新放回磁力架，静置 5 min。
- 重复以上洗涤步骤两次。
注：充分的清洗有助于确保后续洗脱过程中获得高纯度的目标细胞。
- 磁吸结束后，弃去上清液。取下流式管，迅速加入 1 mL Magnetic Beads Release Buffer 重悬磁珠，确保磁珠不干燥，将磁珠悬液转移到 1.5 mL 离心管中，在室温下旋转孵育 10 min。
注：当分选的细胞数量不同，可以相应调整 Magnetic Beads Release Buffer 的体积。如果分选的细胞数量少于 1×10^7 ，使用 200 μ L Magnetic Beads Release Buffer 进行洗脱。
- 孵育结束后，使用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移到一个新的流式管中，加入分选缓冲液至 2.5 mL，轻轻吹打混匀后，将流式管放置在磁力架上静置 5 min。
- 此时上清液中含有目标细胞，将上清液转移至一个 15 mL 离心管中备用。迅速加入 1 mL Magnetic Beads Release Buffer 重悬磁珠，防止其干燥，并将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中，在室温下旋转孵育 10 min。
- 重复细胞洗脱（步骤 12）一次，保留上清液。
- 将第二次洗脱后的上清液与第一次的上清液混合，500 g 离心 5 min，弃去上清液，即可获得无磁珠标记的 CD4+ 细胞。
- 根据实验要求洗涤细胞后，将其重悬于所需的缓冲液或培养基中，便可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

保存条件

4°C，2 年。

注意事项

- 避免冷冻试剂盒各组分。磁珠应保存在储存溶液中，防止干燥。
- 在从磁珠保存管中取出磁珠之前，应充分震荡以确保均匀悬浮。操作过程中注意避免产生气泡。
- 建议使用质量较好的移液器吸头和反应管，以避免因磁珠和溶液附着而造成损失。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

阴选法和阳选法的比较

磁性细胞分选技术	阴选法	阳选法
样本类型	多样	多样
捕获方式	磁珠结合非目的细胞	磁珠结合目的细胞
是否需要解离	不需要	需要
目的细胞是否有抗体标记	无	有
细胞纯度	>97%	>95%
细胞活性	高	高
特点	目的细胞纯度高； 细胞无抗体、无磁珠残留； 细胞活性更好，适用于下游功能实验。	样本范围更广泛

