

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

人 CD4⁺ T 细胞分选试剂盒 (阴选)

Human CD4⁺ T Cell Isolation Kit (negative selection)

产品描述

TargetMol 的人 CD4⁺ T 细胞分选试剂盒 (阴选) 提供超顺磁性微珠, 采用阴性分选法, 从人外周血单个核细胞 (PBMC) 中分离出 CD4⁺ T 细胞。原理是选用生物素 (biotin) 标记的单克隆抗体对非目标细胞 (非 CD4⁺ T 细胞) 进行标记, 然后通过链霉亲和素 (streptavidin) 标记的磁珠对非目标细胞进行清除, 从而达到人外周血 CD4⁺ T 细胞分选的目的。

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: 分选细胞的纯度高, 可达 95% 以上。
2. 活性高: 分选后细胞功能保持完好, 无异常激活, 无抗体和磁珠标记。
3. 易操作: 无需使用分离柱, 通过磁力架即可实现目标细胞分离。

产品应用

- 适用于从人 PBMC 中分选出 CD4⁺ T 细胞。

产品组成

产品编号	产品名称	产品包装 (for 5×10 ⁸ cells)	产品包装 (for 1×10 ⁹ cells)
C0148-1	Biotin-Antibody Mix	100 μL	200 μL
C0148-2	Streptavidin Magnetic Beads	1 mL	2 mL

操作说明

1. 制备人 PBMC: 通过 Ficoll 密度梯度离心法从人外周血中分离出 PBMC, 收集后用 PBS 洗涤细胞, 离心。离心结束后, 弃去上清液, 将 PBMC 重悬于分选缓冲液中, 并调整细胞浓度至 1×10⁸ 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 μm 滤膜过滤灭菌。
2. 将 100 μL 的细胞悬液 (含 1×10⁷ 个细胞) 加入无菌流式管底部, 再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix, 混匀后在 4°C 下孵育 15 min。随后加入 10 倍体积的分选缓冲液, 500 g 离心 5 min, 弃去上清液。最后, 用 100 μL 分选缓冲液将细胞重悬。
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, Biotin-Antibody Mix 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。

3. 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。
4. 向步骤 2 中的细胞悬液加入 10 μ L 经过预处理的 Streptavidin Magnetic Beads，混合均匀，4°C 下孵育 10 min。
注：若分选的细胞数量较多，Streptavidin Magnetic Beads 的用量需按比例增加。例如，分选 5×10^7 个细胞时，在 500 μ L 细胞悬液中加入 10 μ L Biotin-Antibody Mix 和 50 μ L Streptavidin Magnetic Beads。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 Biotin-Antibody Mix 和 10 μ L Streptavidin Magnetic Beads。
5. 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。
6. 将装有细胞的流式管置于磁力架上静置 5 min。
7. 将含有纯化 CD4⁺ T 细胞的细胞悬液轻轻倒入无菌离心管中，倒出过程中流式管保持在磁力架上。可直接用于后续生物学实验或流式细胞分析。如需进一步提高纯度，将细胞悬液以 500 g 离心 5 min，弃去上清，并用 100 μ L 分选缓冲液重悬细胞，按以下步骤进行二次纯化。
注：如果分选的细胞数量较多，应相应增加重悬体积。例如，分选 5×10^7 个细胞时，可将离心后的细胞重悬于 500 μ L 分选缓冲液中。
8. 加入 10 μ L 预清洗的 Streptavidin Magnetic Beads，轻柔混匀后在 4°C 孵育 10 min。
注：若分选细胞数量较多，按比例增加 Streptavidin Magnetic Beads 用量。例如，分选 5×10^7 个细胞时，向 500 μ L 细胞悬液中加入 50 μ L Streptavidin Magnetic Beads。
9. 孵育结束后，补充分选缓冲液至 2.5 mL，用移液器轻柔吹打 5 次混匀，然后将混合液转移至无菌流式管中。
10. 将含有细胞的流式管置于磁力架上，静置 5 min。
11. 将含有纯化 CD4⁺ T 细胞的细胞悬液轻轻倒入无菌离心管中，倒出过程中流式管保持在磁力架上。此时，获得二次纯化的人 CD4⁺ T 细胞，纯度可提高 2-4%。
12. 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

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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

