

# 小鼠 CD4<sup>+</sup> T 细胞磁珠法分选试剂盒 (阴选法)

Mouse CD4<sup>+</sup> T Cell Isolation Kit (Negative Selection)



**产品货号:** M7401S, M7401M

**产品规格:** for 1×10<sup>8</sup> cells, for 5×10<sup>8</sup> cells

**储存条件:** 2~8°C保存, 不可冷冻, 有效期见外包装

**应用范围:** 分选小鼠脾脏和淋巴结 CD4<sup>+</sup> T 细胞

## 产品组分

组分	组分含量	
	M7401S	M7401M
A. Biotin-Antibody Mix	20 μL	100 μL
B. Streptavidin Beads	0.2 mL	1 mL

## 产品介绍

本品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<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> T 细胞分选的目的。分选过程需要用到磁力分离器。

## 实验步骤

以分选小鼠脾脏CD4<sup>+</sup> 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1×10<sup>8</sup> 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 (1×10<sup>7</sup>个细胞) 加入无菌流式管底部, 再加入2 μL Biotin-Antibody Mix, 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Biotin-Antibody Mix的用量。



6. 孵育完成后，在流式管中加入20  $\mu\text{L}$ 清洗过的Streptavidin Beads（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  $\mu\text{L}$ 磁珠进行清洗，则清洗后用20  $\mu\text{L}$ 分选buffer进行重悬），混匀后4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min。

注意：如果分选更多细胞，则按比例增加Streptavidin Beads用量。例如分选 $5 \times 10^7$ 个细胞，在500  $\mu\text{L}$ 细胞悬液中加入10  $\mu\text{L}$  Biotin-Antibody Mix和100  $\mu\text{L}$  Streptavidin Beads。如果分选少于 $1 \times 10^7$ 个细胞，则将细胞悬液体积补至100  $\mu\text{L}$ ，加入2  $\mu\text{L}$  Biotin-Antibody Mix和20  $\mu\text{L}$  Streptavidin Beads。

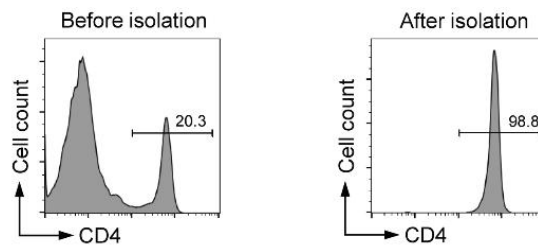
7. 孵育完成后，在流式管中加入2.5 mL分选buffer，用移液器上下混合吹打5次混匀（避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀）。

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 $\text{CD4}^+$  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。

图1. 本产品分选效果图



从C57BL/6小鼠脾脏细胞中分选 $\text{CD4}^+$  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 $\text{CD4}^+$  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均应避免冷冻、高速离心等操作；
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。

