

小鼠 CD4⁺ 细胞分选试剂盒（阳选）

货号: M1522421 | 规格: 10T、100T | 保存条件: 储存, 禁止冷冻

基本信息

项目	信息
规格或纯度	BioReagent
英文名称	Mouse CD4 ⁺ Cell Isolation Kit (Positive Isolation)
应用	细胞分析, 细胞分选

组分与储存

产品号	组件	物理外观	10T	100T	储存
M1522421A	CD4 捕获抗体	液体	20 µL	200 µL	2-8°C
M1522421B	可释放磁珠	液体	200 µL	1 mL×2	2-8°C
M1522421C	磁珠释放缓冲液	液体	4 mL	40 mL	2-8°C

产品介绍

小鼠 CD4⁺ 细胞分选试剂盒(阳选)适用于从小鼠脾脏细胞或其它组织的单细胞悬液中分选出 CD4⁺ 细胞。原理是利用 CD4 捕获抗体对 CD4⁺ 细胞进行标记,然后通过可释放磁珠对目标细胞进行捕获,再用磁珠释放缓冲液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。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。

适用范围

分选小鼠淋巴器官,如脾脏和淋巴结中的 CD4⁺ 细胞。

操作流程(以分选小鼠脾脏 CD4⁺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. 裂解红细胞

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:少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。

3. 过滤与计数

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:细胞悬液需要用细胞筛网过滤,以除去组织和细胞团块,否则会影响后续细胞分选纯度。

4. 调整细胞密度

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 1×10^8 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. 加入 CD4 捕获抗体

将 500 μL 细胞悬液(5×10^7 个细胞)加入无菌流式管底部,再加入 10 μL CD4 捕获抗体,混匀后 4°C 孵育 15 min。

注意:将细胞悬液直接加入流式管底部,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。分选其它数量细胞时可按比例调整 CD4 捕获抗体的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞,则将细胞悬液体积补至 100 μL ,加入 2 μL CD4 捕获抗体。

6. 加入可释放磁珠

孵育完成后,在流式管中加入 100 μL 清洗过的可释放磁珠,混匀后 4°C 孵育 15 min(磁珠使用前需用分选 buffer 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 1min,或使用磁力架磁吸 3 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 重悬)。

注意:分选其它数量细胞时可按比例调整可释放磁珠的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞,使用 20 μL 可释放磁珠。

7. 第一次磁力架分离与清洗

孵育完成后,在流式管中加入分选 buffer 至 2.5 mL,用移液器吹打 5 次混匀(避免上下颠倒混匀)。将流式管置于磁力架上,静置 5 min。

8. 吸弃上清,重悬磁珠

吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下,迅速加入 2 mL 分选 buffer,用移液器反复吹打分散磁珠。将流式管置于磁力架上,静置 5 min。

9. 重复清洗

重复步骤 8 两次(彻底的清洗可以保证后续洗脱高纯度的目的细胞)。

10. 第一次洗脱

磁吸结束后,吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下,迅速加入 1mL 磁珠释放缓冲液重悬磁珠,避免磁珠干燥,将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中,室温旋转孵育 10 min。

注意:分选其它数量细胞时可按比例调整磁珠释放缓冲液的用量。如果分选少于 1×10^7 个细胞,使用 200 μ L 磁珠释放缓冲液洗脱细胞。

11. 收集第一次洗脱细胞

孵育完成后,用移液器反复吹打至少 10 次,将磁珠悬液转移至一个新的流式管中,补加分选 buffer 至 2.5 mL,吹打混匀,将流式管置于磁力架上,静置 5 min。

12. 第二次洗脱

将上清液转移到一个 15 mL 离心管中备用(上清中含有目的细胞,不要丢弃)。迅速用 1 mL 磁珠释放缓冲液重悬磁珠,避免磁珠干燥,将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中,室温旋转孵育 10 min。

13. 收集第二次洗脱细胞

孵育完成后,用移液器反复吹打至少 10 次,将磁珠悬液转移至一个新的流式管中,补加分选 buffer 至 2.5 mL,吹打混匀,将流式管置于磁力架上,静置 5 min。

14. 合并细胞并离心

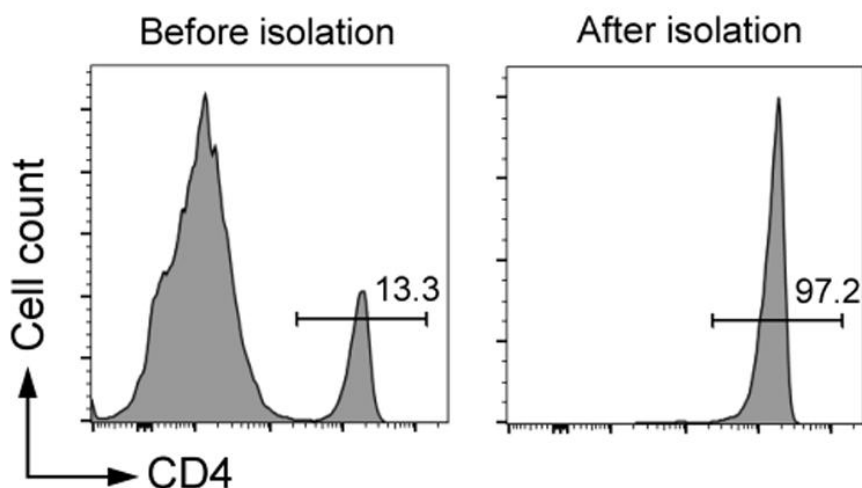
将上清液与第一次洗脱后的细胞上清液混合,500 g,离心 5 min,弃上清,即可收集到无磁珠标记的 CD4⁺细胞。

15. 重悬备用

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,可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

分选效果

从 BALB/c 小鼠脾脏细胞中分选 CD4⁺细胞,用 PE 标记的 anti-mouse CD4 抗体(克隆号 RM4-4)染色后进行流式细胞分析,分选前后的 CD4⁺细胞纯度分别为 13.3%和 97.2%。



注意事项

1. 试剂盒各组分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. 本产品需与磁力架配套使用。
4. 本产品仅供研究使用。



上海阿拉丁生化科技股份有限公司
上海市浦东新区新金桥路 36 号南塔 16 楼

客服热线: 400-620-6333

购买邮箱: sales@aladdin-e.com

客服邮箱: customer-care@aladdin-e.com

股票代码: 688179

www.aladdin-e.com

联系我们 / 全球办公室

如您对产品有技术问题、需要询价或查询订单状态, 我们各地区的客户服务和技术支持团队可随时为您提供协助, 请就近联系您所在区域的办公室。

中国区销售与客户服务

上海阿拉丁生化科技股份有限公司

上海市浦东新区新金桥路 36 号南塔 16 楼

电话: 400-620-6333

购买邮箱: sales@aladdin-e.com

客服邮箱: customer-care@aladdin-e.com

股票代码: 688179

免责声明

- 本产品仅供科研使用, 不得用于医药、临床诊断或治疗、食品、化妆品及家庭等用途。
- 本产品不是按欧盟 IVDR (EU) 2017/746 取得 CE 认证的体外诊断器械, 也未取得 FDA 批准 (21 CFR)。仅限有资质的科研单位、企业及专业人员用于研发用途。
- 若产品任一组分按 GHS (GB 30000 系列) 属于危险化学品, 相关的安全技术说明书 (SDS) 的内容优先于本说明书, 请参照 SDS 进行储存、操作和废弃。
- 实验结果受样本类型、样本状态、操作过程、操作者技术等因素影响。用户应根据具体样本和下游应用进行适用性验证。
- 阿拉丁产品标签、SDS、COA 和已批准规格优先于本说明书。若产品配方、标签、SDS、储存条件、包装规格或质量标准发生变更, 本文件会重新审核和发布。