

## Mouse CD4<sup>+</sup> Cell Isolation Kit

### 小鼠 CD4<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒（阳选）

产品编号	产品名称	规格
BL1662A	小鼠CD4 <sup>+</sup> 细胞分选试剂盒（阳选）	for 1*10 <sup>8</sup> cells
BL1662B	小鼠CD4 <sup>+</sup> 细胞分选试剂盒（阳选）	for 1*10 <sup>9</sup> cells

#### 产品简介:

小鼠 CD4<sup>+</sup> 细胞分选试剂盒（阳选）是适用于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> 细胞。原理是利用 CD4 Capture Antibody 对 CD4<sup>+</sup>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<sup>+</sup>细胞。本产品适用于分选小鼠淋巴器官，如脾脏和淋巴结中的 CD4<sup>+</sup>细胞。

#### 产品组分:

编号	产品名称	BL1662A	BL1662B
1	CD4 Capture Antibody	20 μL	200 μL
2	Releasable Beads	0.2 mL	2 mL
3	Beads Release Buffer	4 mL	40 mL

#### 使用方法（仅供参考）：（以分选小鼠脾脏 CD4<sup>+</sup>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，室温裂解 5 min，再加入 20 mL PBS，500 g，离心 5 min。

注：红细胞裂解方法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：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：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 500 μL 细胞悬液（5×10<sup>7</sup> 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 2 μL CD4 Capture Antibody，混匀后 4°C 孵育 10 min。

注：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。分选其它数量细胞时可则按比例调整 CD4 Capture Antibody 的用量。如果分选少于 1×10<sup>7</sup> 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL CD4 Capture Antibody。

6、孵育完成后，在流式管中加入 100 μL 清洗过的 Releasable 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，10,000 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 μL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μL 分选 Buffer 进行重悬）。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



**注：**如分选其它数量细胞时可则按比例调整 Releasable Beads 的用量。如果分选少于  $1 \times 10^7$  个细胞，使用 20  $\mu$ L Releasable 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）。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

8、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 重悬磁珠，避免磁珠干燥。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

9、重复步骤 8 一次（清洗步骤可以保证获得高纯度的目的细胞）。

10、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 1 mL Beads Release Buffer 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 分钟。

**注：**分选其它数量细胞时可则按比例调整 Beads Release Buffer 的用量。如果分选少于  $1 \times 10^7$  个细胞，使用 200  $\mu$ L Beads Release Buffer 洗脱细胞。

11、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，置于磁力架上，静置 5 分钟。

12、将上清液转移到一个新的流式管中备用（**上清中含有目的细胞，不要丢弃**）。迅速用 1 mL Beads Release Buffer 再次重悬磁珠，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 分钟。

13、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，置于磁力架上，静置 5 分钟。

14、将上清液与第一次洗脱后的细胞上清液混合，置于磁力架上，静置 5 min，去除残留磁珠。

15、将上清液转移至离心管中，500g，离心 5 min，弃上清，即可收集到无磁珠标记的 CD4<sup>+</sup>细胞。

16、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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>细胞纯度分别为 13.3%和 97.2%。

### 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；
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 保存条件：

4°C 保存，不可冷冻，有效期 1 年。

