

人 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选法）

货号：RK50031

规格：：50T/100T

◆ 产品简介

人 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选法）可通过阴性分选法从人外周血单个核细胞（PBMC）中分离出 CD4+T 细胞。

原理是利用生物素（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。

该试剂盒分选过程中需要用到磁力架（建议使用适配 5mL 流式管的磁力架，磁场强度需要大于 7000Gs，如 ABclonal AI20025）。

◆ 产品信息

组分名称	50T 规格	100T 规格
Biotin CD4-Antibody Mix(human)	100 μ L	200 μ L
Streptavidin 磁珠	1 mL	2 mL

*此处 T 规格对应每 1×10^7 总细胞所用的试剂总量，实际使用时需根据细胞数量和实验需求调整试剂用量，可参

考注意事项 1。

◆ 保存条件

2°C~8°C 保存（不可冷冻）。

◆ 操作步骤

一、制备人 PBMC：

1. 利用 Ficoll 密度梯度离心法从人外周血中分离 PBMC，收集 PBMC，以 PBS 洗涤细胞，离心后将 PBMC 重悬于分选 buffer 中，调整总细胞密度为 1×10^8 cells/mL。

*分选 buffer：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 μ m 滤膜过滤除菌。

二、磁珠分选：

1. 取 100 μL 细胞悬液（含 1×10^7 cells）直接加入到流式管底部（不要沿管壁加），再加入 2 μL Biotin CD4-Antibody Mix，混匀后 4°C 孵育 15 min。根据所使用磁力架不同也可以使用相应的离心管进行细胞分选。

2. 孵育完成后，加入 10 倍原细胞悬液体积的分选 Buffer，500 g 离心 5min。然后用 100 μL 分选 Buffer 重悬。

注：如果分选更多细胞，按比例增加 Biotin CD4-Antibody Mix 的用量，可以使用 15 mL 或 50 mL 离心管进行操作。例如分选 5×10^7 个细胞，在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μL Biotin CD4-Antibody Mix，用 5 mL 分选 buffer 洗涤，离心后细胞重悬于 500 μL 分选 buffer。

3. 清洗 Streptavidin 磁珠：涡旋振荡，重悬磁珠，吸取 20 μL 磁珠至离心管中，加入 1 mL 分选 Buffer。10000 g，离心 1 min，弃上清（或用磁力架磁吸 3 min）。重复 1 次（共清洗两次），然后用 20 μL 分选 Buffer 进行重悬。

4. 向细胞悬液中加入 20 μL 清洗过的 Streptavidin 磁珠，混匀后 4°C 孵育 10 min。

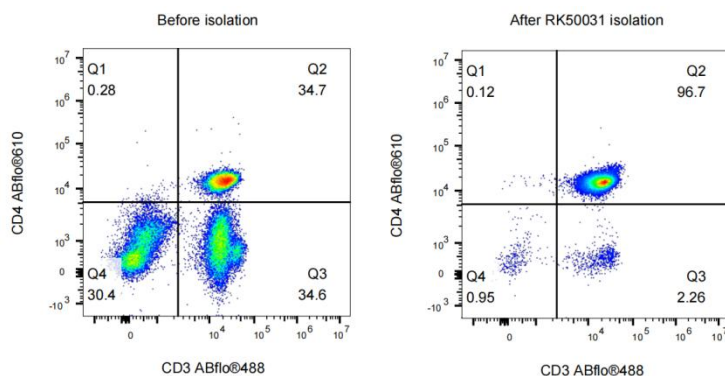
5. 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分选 Buffer，吹打混匀（避免剧烈振荡或上下颠倒）。

6. 将流式管置于磁力架上，静置 5 min。随后缓缓将离心管倾斜，细胞悬液转移至新的无菌离心管中（整个过程离心管不要脱离磁力架，轻柔操作），新离心管中收集到的细胞悬液即为分离纯化的人 CD4+T 细胞。

7. 300 g，离心 5 min。根据实验需要洗涤细胞，然后重悬于相应缓冲液或培养基中备用，进行后续实验。

◆ 分选效果

从人 PBMC 中分选 CD4+T 细胞：



左图：分选前的细胞用 CD3 抗体（A26283）和 CD4 抗体（A26218）进行检测，CD4+T 细胞比例为 34.7%；

右图：经过 RK50031 试剂盒分选后的细胞用 CD3 抗体（A26283）和 CD4 抗体（A26218）进行检测，CD4+T 细胞比例为 96.7%。

◆ 注意事项

1. 可根据要分选的细胞数按比例调整用量，参考下表：

分选细胞数 (cells)	细胞悬液体积 (μL)	Biotin CD4-Antibody Mix 体积(μL)	Streptavidin 磁珠体积 (μL)
1x10 ⁷	100	2	20
5x10 ⁷	500	10	100

*若分选少于 1x10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL Biotin CD4-Antibody Mix 和 20 μL

Streptavidin 磁珠。

2. 建议使用低吸附移液器枪头盒离心管，降低磁珠与抗体的损耗。

◆ 其他磁珠分选试剂盒产品

货号	产品名称
RK50106	小鼠 CD8+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50107	小鼠 CD3+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50108	小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阳选法）
RK50109	小鼠 CD8+T 细胞分选试剂盒（阳选法）
RK50030	人 CD3+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50032	人 CD8+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
RK50033	人 CD34+细胞富集试剂盒（阴选法）
RK50034	人 CD3 磁珠
RK50035	小鼠 CD3 磁珠