小鼠 Naive CD4 细胞分选试剂盒（阴选法）

货号：RK50042

◆ 产品简介

本产品通过阴性分选法从小鼠脾脏细胞、淋巴结或其他组织的单细胞悬液中分选出 Naive CD4 细胞。其原理是用不同的生物素标记单克隆抗体对非目标细胞（非 Naive CD4 细胞）进行标记，然后再与链霉亲和素（Streptavidin）包被的磁珠结合。当细胞悬液置于磁力架时，非 Naive CD4 细胞会被滞留于磁极区域中，从而实现 Naive CD4 细胞高效的去除和富集。

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	100 PCS (For 1x10^9 total cells)	50 PCS (For 5x10^8 total cells)
Naive CD4 Antibody Cocktail (mouse)	1 mL	500 μL
Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse)	1 mL	500 μL

**此处每 PCS 对应每 1x10^7 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℃~ 8℃保存（不可冷冻）。

◆ 操作步骤

以分选小鼠脾脏 Naive CD4 细胞为例。

一、制备脾脏单细胞悬液：

1. 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，加入红细胞裂解液，室温裂解。

注：红细胞裂解方法可根据所用红细胞裂解液不同，调整用量及时间。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

3. 离心洗涤，再次过 70 μm 细胞筛。离心重悬，计数后离心，用分选 buffer 重悬，调整总细胞密度为 1x10^8 cells/mL。

***分选 Buffer：含 2 mM EDTA 和 2% FBS（或 0.5%BSA）的 1xPBS（不含 Ca^{2+}或 Mg^{2+}）。**

二、磁珠分选：

1. 取 100 μL 细胞悬液(含 1x10^7 cells)直接加入流式管底部(不要沿管壁加),再加入 10 μL Naive CD4 Antibody Cocktail (mouse），混匀后 4℃孵育 10 min。

若分选更多细胞，可按比例增加 Naive CD4 Antibody Cocktail (mouse）用量，详见后文注意事项 1。

2. 在将 Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse）磁珠加入细胞之前，必须将磁珠充分均匀重悬，以确保达到最佳性能：使用 1 mL 移液器上下吹打 10 次，或将磁珠涡旋振荡，从而将磁珠彻底重悬。

3. 向细胞悬液中加入 10 μL Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse），充分混匀后，4℃孵育 10 min。

若分选更多细胞，可按比例增加 Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse）用量，详见后文注意事项 1。

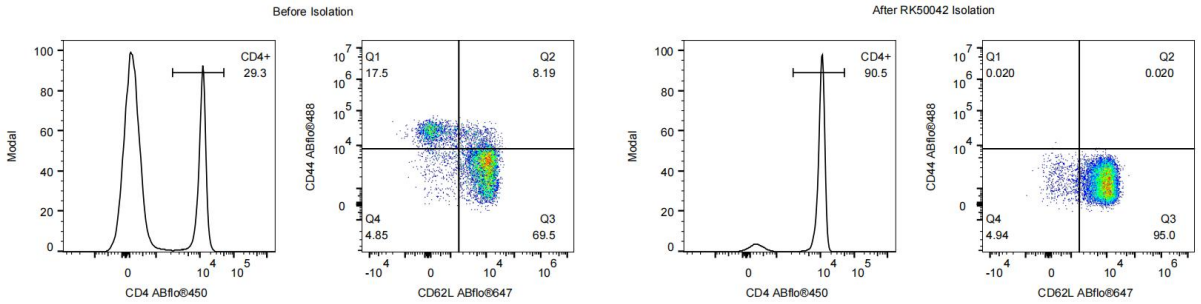
4. 孵育完成后，在流式管中加入 2.5 mL 分选 Buffer，吹打混匀（避免剧烈震荡或上下颠倒）。随后将流式管置于磁力架上，静置 3 min。

5. 将细胞悬液转移至新的无菌离心管中（整个过程流式管不要脱离磁力架，轻柔操作），新离心管中收集到的细胞悬液即为分离纯化的小鼠 Naive CD4 细胞。

6. 将流式管从磁力架上取下，重复步骤 4 和步骤 5，进行一次洗涤，合并未标记的细胞，500 g，离心 5 min，弃上清收集细胞。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。

◆ **分选效果**

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn



使用 RK50042 小鼠 Naive CD4 细胞分选试剂盒（阴选法）从 C57BL/6 小鼠脾脏细胞中分选 Naive CD4 细胞，分选前后均用 CD4（A25941 ）、CD44（A24636）、CD62L（A26716）进行检测，分选前后 CD4+T 细胞中 Naive 细胞（CD44-CD62L+）的比例分别为 69.5%和 95.0%。

◆ 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）	Naive CD4 Antibody Cocktail (mouse) 体积（μL）	Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse) 体积（μL）
1x10^7	100	10	10
5x10^7	500	50	50

***若分选少于 1x10^7 个细胞，按照 1x10^7 总细胞加相应量试剂，将细胞悬液体积补至 100 μL，再加入 10 μL Naive CD4 Antibody Cocktail (mouse）和 10 μL Naive CD4 Negative Selection Beads (mouse）。**

◆ 其他磁珠分选试剂盒产品

货号	产品名称
RK50105	小鼠 CD4+T 细胞分选试剂盒（阴选法）
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）

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

RK50031	人 CD4+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