

Human CD4⁺ T Cell Isolation Kit

人 CD4⁺ T 细胞分选试剂盒（阴选）

产品编号	产品名称	规格
BL5841S	人CD4 ⁺ T细胞分选试剂盒（阴选）	for 1*10 ⁸ cells
BL5841A	人CD4 ⁺ T细胞分选试剂盒（阴选）	for 5*10 ⁸ cells
BL5841B	人CD4 ⁺ T细胞分选试剂盒（阴选）	for 1*10 ⁹ cells

产品简介：

人 CD4⁺ T 细胞分选试剂盒是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，从而达到纯化人 CD4⁺ T 细胞的目的。分选过程需要用到磁力架。

适用范围：

本试剂盒适用于从新鲜分离的人 PBMC 或冻存的人 PBMC 中分选出 CD4⁺ T 细胞

产品组分：

编号	产品名称	BL5841S	BL5841A	BL5841B
1	Biotin-Antibody Mix	20 μL	100 μL	200 μL
2	Streptavidin Magnetic Beads	0.2 mL	1 mL	2x1 mL

使用方法（仅供参考）：

1、制备人 PBMC：利用 Ficoll 密度梯度离心法从人外周血中分离单个核细胞，以 PBS 洗涤细胞，离心后将 PBMC 重悬于分选 Buffer 中，调整细胞密度为 1×10⁸ 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。

2、将 100 μL 细胞悬液（1×10⁷ 个细胞）加入无菌 1.5 mL 离心管底部，再加入 2 μL Biotin-Antibody Mix，混匀后 4℃ 孵育 15 min。加入 10 倍体积的分选 buffer，500g，离心 5 min，弃上清。用 100 μL 分选 Buffer 重悬细胞。

注：如果分选更多细胞，按比例增加 Biotin-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 5×10⁷ 个细胞，在 500 μL 细胞悬液中加入 10 μL Biotin-Antibody Mix，用 5 mL 分选 Buffer 洗涤，离心后细胞重悬于 500 μL 分选 buffer。

3、清洗磁珠：涡旋振荡彻底重悬磁珠，取 20μL 磁珠至一个无菌 1.5 mL 离心管，加入分选 Buffer 至总体积为 1 mL，10000 g，离心 1 min，或使用磁力架磁吸 3min，弃上清。加入 1 mL 分选 Buffer 重复洗涤磁珠 1 次后用 20μL 分选 Buffer 重悬磁珠。

4、往细胞悬液中加入 10 μL 清洗过的 Streptavidin Magnetic Beads，混匀后 4℃ 静置孵育 10 min。

注：如果分选更多细胞，则按比例增加 Streptavidin Magnetic Beads 用量。例如分选 5×10⁷ 个细胞，在 500 μL 细胞悬液中加入 50 μL Streptavidin Magnetic Beads。如果分选少于 1×10⁷ 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL Biotin-Antibody Mix 和 10 μL Streptavidin Magnetic Beads 进行分选。

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。



5、孵育完成后，将细胞和磁珠混合液转移至一个无菌流式管中，补加分选 buffer 至 2.5 mL，用移液器吹打 5 次混匀。

6、将含有细胞的分选流式管置于磁力架上，静置 5 min。

7、将细胞悬液转移至一个无菌离心管中（转移细胞悬液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人 CD4⁺ T 细胞，可应用于下游的生物学实验或流式细胞检测。如需进一步提高 CD4⁺ T 细胞的纯度，将细胞悬液 500 μ L，离心 5 min。弃上清，用 100 μ L 分选 buffer 重悬细胞，继续按照如下步骤进行二次纯化。

注：如果分选更多细胞，则相应增加重悬体积。例如分选 5×10^7 个细胞，离心后细胞重悬于 500 μ L 分选 buffer。

8、加入 10 μ L 清洗过的 Streptavidin Magnetic Beads，混匀后 4°C 静置孵育 10 min。

注：如果分选更多细胞，则按比例增加 Streptavidin Magnetic Beads 用量。例如分选 5×10^7 个细胞，往 500 μ L 细胞悬液中加入 50 μ L Streptavidin Magnetic Beads。

9、孵育完成后，补加分选 buffer 至 2.5 mL，用移液器吹打 5 次混匀，将细胞和磁珠混合液转移至一个无菌流式管中。

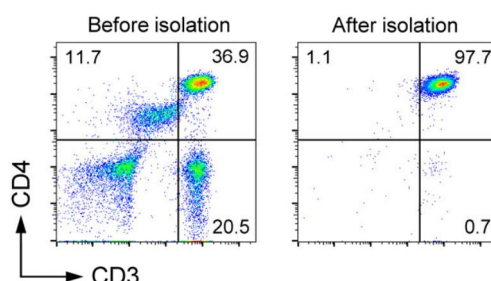
10、将含有细胞的流式管置于磁力架上，静置 5 min。

11、将细胞悬液转移至一个无菌离心管中（转移细胞悬液过程中流式管不要脱离磁力架），此细胞悬液中即包含二次纯化的人 CD4⁺ T 细胞。第二次纯化可将 CD4⁺ T 细胞纯度提高 2-4%。

12、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：

从人 PBMC 中分选 CD4⁺ T 细胞，用 PE 标记的 anti-human CD4 抗体（克隆号 RPA-T4）和 APC 标记的 anti-human CD3 抗体（克隆号 OKT3）染色后进行流式细胞分析，分选前后的 CD3⁺ CD4⁺ T 细胞纯度分别为 36.9%和 97.7%。



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：

2-8°C 保存，不可冷冻，有效期 1 年。

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。

