

Mouse CD4 No-column Positive Selection Cell Isolation Kit

目录号: Q2001

产品介绍

小鼠 CD4 无柱解离式阳性分选试剂盒适用于从小鼠脾脏或其它组织的单细胞悬液中分选出 CD4⁺ 细胞。

应用范围

小鼠 CD4 无柱解离式阳性分选试剂盒适用于分选小鼠淋巴器官，如脾脏和淋巴结中的 CD4⁺ 细胞。原理是利用 CD4 抓取抗体对 CD4⁺ 细胞进行标记，然后通过可解离磁珠对目标细胞进行捕获，再用解离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。

组分

CD4 抓取抗体 (200 μ L) ;
可解离磁珠 (2 mL) ;
10 $\times$ 解离液 (4 mL) 。

储存条件

4 $^{\circ}$ C 储存。

安全信息

仅供研究使用。不用于任何动物或人类的治疗或诊断用途。

实验前准备

缓冲液: PBS 缓冲液 (pH 7.2) 包括 0.5% 的 BSA 和 2 mM EDTA, 需预先通过 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。

实验步骤

实验过程要快, 全程保持细胞低温。

1. 制备单细胞悬液: 在 70 μ m 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. 离心完成后, 弃上清, 加入 10 mL ACK 红细胞裂解液, 室温裂解 5 min, 再加入 10 mL PBS, 300 g, 离心 3 min;
3. 离心完成后, 弃上清, 将脾细胞重悬于 PBS, 计数。计数完成后, 继续以 300 g, 离心 3 min;
4. 离心完成后, 弃上清, 将细胞重悬于缓冲液中, 调整细胞密度为 1×10^6 cells/mL;

5. 每 10^7 细胞中加入 2 μ L CD4 抓取抗体, 混匀后 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。每隔 5 min 敲打混匀;

6. 取 20 μ L 可解离磁珠, 用缓冲液清洗 2 遍后, 重新用 20 μ L 缓冲液重悬。随后加入步骤 5 中;

注意: 如果分选更多细胞, 则按比例增加 CD4 抓取抗体以及可解离磁珠的用量。例如分选 5×10^7 细胞, 则应在 500 μ L 细胞悬液中加入 10 μ L CD4 抓取抗体以及 100 μ L 可解离磁珠。

7. 孵育完成后, 加入 1 mL 缓冲液 (避免剧烈振荡或者上下颠倒混匀) 并转移到流式管中, 再加入 1.3 mL 的缓冲液。将流式管放在流式管磁力架上静置 3 min。将上清液轻轻倒入 2 mL 离心管中 (可选);

8. 再将流式管从磁力架上取下, 迅速加入 2 mL 缓冲液, 用移液器反复吹打分散磁珠。将流式管放在流式管磁力架上静置 3 min。吸出并丢弃上清液;

9. 重复步骤 8 两次;

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 200 μ L 解离液 (用缓冲液将 10 $\times$ 解离液稀释 10 倍) 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则按比例调整解离液的用量。

11. 孵育完成后, 加入 1 mL 的缓冲液, 吹打混匀, 并转移到流式管中, 再加入 1.3 mL 的缓冲液。将流式管放在流式管磁力架上静置 3 min;

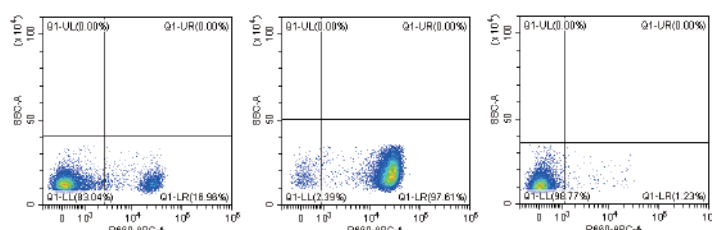
12. 将上清液转移到一个 15 mL 离心管中备用 (上清中含有目的细胞, 不要丢弃)。迅速加入 200 μ L 解离液 (用缓冲液将 10 $\times$ 解离液稀释 10 倍) 重悬磁珠, 避免磁珠干燥, 将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中, 室温旋转孵育 10 min;

13. 孵育完成后, 加入 1 mL 的缓冲液, 吹打混匀, 并转移到流式管中, 再加入 1.3 mL 的缓冲液。将流式管放在流式管磁力架上静置 3 min;

14. 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. 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。

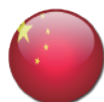
验证效果示意图



Pre-sorting splenocytes
(C57BL/6 mice)

Mouse CD4⁺ cells

Mouse CD4⁻ cells



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn