

Human CD4 No-column Positive Selection Cell Isolation Kit

目录号: Q2002

产品介绍

人 CD4 无柱解离式阳性分选试剂盒适用于从人外周血单个核细胞 (PBMC) 中分选出 CD4⁺ 细胞。

应用范围

人 CD4 无柱解离式阳性分选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⁺ 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人 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. 准备新鲜的 PBMC 或者液氮冻存复苏的 PBMC, 调整细胞密度为 1×10^8 cells/mL;
2. 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;
3. 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 2 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。

4. 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 (可选择);

5. 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;

6. 重复步骤 5 两次;

7. 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。

8. 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;

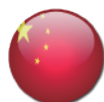
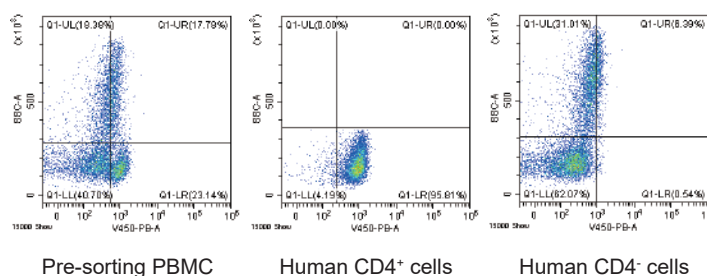
9. 将上清液转移到一个 15 mL 离心管中备用 (上清中含有目的细胞, 不要丢弃)。迅速加入 200 μ L 解离液 (用缓冲液将 10 $\times$ 解离液稀释 10 倍) 重悬磁珠, 避免磁珠干燥, 将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中, 室温旋转孵育 10 min;

10. 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;

11. 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。

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, 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



订购 & 咨询

Tel: 400-668-6834

Email: info@selleck.cn