

## BeaverBeads® 小鼠 CD4<sup>+</sup>细胞分选试剂盒（阳选法）产品说明书

### 产品简介

小鼠 CD4<sup>+</sup>细胞分选试剂盒（阳选法）适用于从小鼠脾脏细胞或其它组织的单细胞悬液中分选出 CD4<sup>+</sup>细胞。原理是利用 CD4 Capture Antibody 对 CD4<sup>+</sup>细胞进行标记，然后通过 Releasable BeaverBeads®对目标细胞进行捕获，再用 BeaverBeads® Release Buffer 将磁珠从细胞表面解离，从而得到无磁珠标记的小鼠 CD4<sup>+</sup>细胞。分选得到的 CD4<sup>+</sup>细胞可应用于下游的分子生物学和细胞生物学实验。

### 产品信息

| 组分名称                        | Cat. No.:70904-100<br>规格 (For 10 <sup>9</sup> cell) |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------|
| CD4 Capture Antibody        | 200 μL                                              |
| Releasable BeaverBeads®     | 2 mL                                                |
| BeaverBeads® Release Buffer | 40 mL                                               |

### 储存条件及有效期

2-8℃ 保存，不可冷冻，有效期见试管标签。

### 适用范围

本试剂盒适用于分选小鼠淋巴器官，如脾脏和淋巴结中的 CD4<sup>+</sup>细胞。

### 操作流程

以分选小鼠脾脏 CD4<sup>+</sup>细胞为例：

- 制备单细胞悬液：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。
- 离心结束，弃上清，加入 5 mL 红细胞裂解液（ACK），室温裂解 5 min，再加入 20 mL PBS，500 g，离心 5 min。

**注意：**少量红细胞残留不会影响后续分选及细胞纯度。

- 离心完成后，弃上清，将脾细胞重悬于 PBS，细胞悬液用 70 μm 细胞筛网过滤后，计数。计数完成后，500 g，离心 5 min。

**注意：**细胞悬液需要用细胞筛网过滤，以除去组织和细胞团块，否则会影响后续细胞分选纯度。

- 离心完成后，弃上清，将细胞重悬于分选 buffer 中，调整细胞密度为 1×10<sup>8</sup> cells/mL。

**注意：**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。

- 将 500 μL 细胞悬液（5×10<sup>7</sup> 个细胞）加入无菌流式管底部，再加入 10 μL CD4 Capture Antibody，混匀后 4℃ 孵育 15 min。

**注意：**将细胞悬液直接加入流式管底部，避免沿流式管管壁加入。根据所使用磁力架不同也可使用离心管进行细胞分选。分选其它数量细胞时可则按比例调整 CD4 Capture Antibody 的用量。如果分选少于 1×10<sup>7</sup> 个细胞，则将细胞悬液体积补至 100 μL，加入 2 μL CD4 Capture Antibody。

- 孵育完成后，在流式管中加入 100 μL 清洗过的 Releasable BeaverBeads®，混匀后 4℃ 孵育 15 min（磁珠使用前用分选 buffer 清洗：涡旋振荡重悬磁珠，吸取实验需要的磁珠至 1.5 mL 离心管，加入 1 mL 分选 buffer，10000 g 离心 1 min，弃上清。加入 1 mL 分选 buffer 重复洗涤磁珠 1 次后用与原来相同体积的分选 buffer 重悬磁珠。如吸取 20 μL 磁珠进行清洗，则清洗后用 20 μL 分选 buffer 进行重悬）。

**注意：**分选其它数量细胞时可则按比例调整 Releasable BeaverBeads®的用量。如果分选少于 1×10<sup>7</sup> 个细胞，使用 20 μL Releasable BeaverBeads®。

- 孵育完成后，在流式管中加入分选 buffer 至 2.5 mL，用移液器吹打 5 次混匀（避免上下颠倒混匀）。将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

- 吸出并丢弃上清液。将流式管从磁力架上取下，迅速加入 2 mL 分选 buffer，用移液器反复吹打分散磁珠。

将流式管置于磁力架上，静置 5 min。

- 重复步骤 8 两次（彻底的清洗可以保证后续洗脱高纯度的目的细胞）。

- 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 1 mL BeaverBeads® Release Buffer 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 分钟。

**注意：**分选其它数量细胞时可则按比例调整 BeaverBeads® Release Buffer 的用量。如果分选少于 1×10<sup>7</sup> 个细胞，使用 200 μL BeaverBeads® Release Buffer 洗脱细胞。

- 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，补加分选 buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，将流式管置于磁力架上，静置 5 分钟。

- 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）。迅速用 1 mL BeaverBeads® Release Buffer 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 分钟。

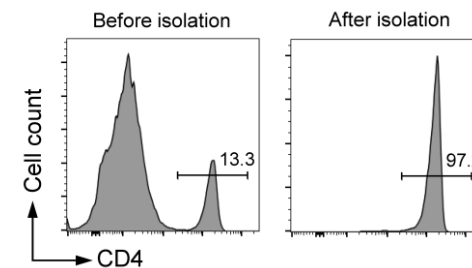
- 孵育完成后，用移液器反复吹打至少 10 次，将磁珠悬液转移至一个新的流式管中，补加分选 buffer 至 2.5 mL，吹打混匀，将流式管置于磁力架上，静置 5 分钟。

- 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<sup>+</sup>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，可用于后续分子生物学或细胞生物学实验。

### 分选效果

从 BALB/c 小鼠脾脏细胞中分选 CD4<sup>+</sup>细胞，用 PE 标记的 anti-mouse CD4 抗体（克隆号 RM4-4）染色后进行流式细胞分析，分选前后的 CD4<sup>+</sup>细胞纯度分别为 13.3% 和 97.2%。



### 注意事项

- 试剂盒各组分使用和保存过程中应避免冷冻；
- 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；
- 本产品需与磁力架配套使用；
- 本产品仅供研究使用。

### 产品列表

| 货号    | 产品名称                                         | 规格                                                    |
|-------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 70901 | BeaverBeads®小鼠 CD4 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒    | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70902 | BeaverBeads®小鼠 CD8 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒    | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70903 | BeaverBeads®小鼠 CD3 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒    | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70904 | BeaverBeads®小鼠 CD4 <sup>+</sup> 细胞分选试剂盒(阳选法) | For 10 <sup>9</sup> cells                             |
| 70905 | BeaverBeads®小鼠 CD8 <sup>+</sup> 细胞分选试剂盒(阳选法) | For 10 <sup>9</sup> cells                             |
| 70906 | BeaverBeads®人 CD34 <sup>+</sup> 细胞富集试剂盒      | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70907 | BeaverBeads®小鼠中性粒细胞分选试剂盒                     | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70908 | BeaverBeads®人 CD4 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒     | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70909 | BeaverBeads®人 CD8 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒     | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |
| 70910 | BeaverBeads®人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠              | For 10 <sup>8</sup> cells or 2 ×10 <sup>7</sup> cells |
| 71001 | BeaverBeads®人 CD66b <sup>+</sup> 细胞分选试剂盒     | For 10 <sup>9</sup> cells                             |
| 71003 | BeaverBeads®人 CD3 <sup>+</sup> T 细胞分选试剂盒     | For 10 <sup>9</sup> cells or 5 ×10 <sup>8</sup> cells |

#### 有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权，受有关商标权、专利、版权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用，并且该权利不可转让，亦不可用于任何商业应用，购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用（包括但不限于代理销售），则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可，并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权限信息，请联系 [Beaver@beaverbio.com](mailto:Beaver@beaverbio.com)，或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址：中国（江苏）自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城东北区 36 楼，邮编 215000。

#### 版权声明

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容，无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息，未经特殊说明，其著作权均属苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律法规，不尊重本声明，不经同意，擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为，本公司保留采取法律措施，追究其责任的权力。需要支持，请访问：[www.beaverbio.com/support](http://www.beaverbio.com/support) 或电子邮件：[Service@beaverbio.com](mailto:Service@beaverbio.com)