

## CD4 (L3T4) 分选磁珠, 小鼠(92-01-0357)

### [组分]

小鼠 CD4 (L3T4) 磁珠: 与抗小鼠 CD4 单克隆抗体 (L3T4; 同型: 大鼠 IgG2b) 偶联的磁珠

[规格] 2 mL, 可分选  $2 \times 10^9$  个细胞总量。

[保存形式] 所有组分储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存, 请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

### [试剂和仪器要求]

- 缓冲液: 配制含有 pH7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 和 2 mM EDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理, 因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- 分选柱和分离器。
- (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。

### [步骤]

#### 一、磁珠标记

- ▲ 快速工作, 保持细胞低温, 并使用预冷溶液, 可以减少细胞的非特异性标记。
- ▲ 下面给出的磁珠标记规模为  $10^7$  个细胞总量。当处理少于  $10^7$  个细胞时, 使用与指示相同的体积。当处理较高的细胞数时, 相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如, 对于  $2 \times 10^7$  总细胞, 使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。

1. 细胞计数。
2. 每  $10^7$  个细胞总量使用 90  $\mu\text{L}$  缓冲液重悬。
3. 每  $10^7$  个细胞总量添加 10  $\mu\text{L}$  CD4 (L3T4) 磁珠。
4. 混匀，2-8  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 分钟。
5. 进行细胞分选步骤。

▲注：磁分选的最小要求为 500  $\mu\text{L}$ 。如有必要，在细胞悬液中加入缓冲液。

## 二、细胞分选

▲ 分选柱液体排空后再进行下一步操作。

### xM 或 xL 分选柱进行细胞分选

1. 将分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱：  
xM: 500  $\mu\text{L}$                       xL: 3 mL
3. 将细胞悬液转移至分选柱中，收集流穿的未标记的细胞，这部分为 CD4 阴性细胞。
4. 结合磁珠的细胞会被吸附到分选柱上，没有结合的细胞会顺着液体流下来。加适量的缓冲液清洗，收集总流出物和上一步收集的部分混合。  
xM: 2×500  $\mu\text{L}$                       xL: 1×3 mL
5. 将分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。
6. 加适量的缓冲液到分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是目的细胞。

xM: 1 mL                      xL: 5 mL



## FOCUS ON CELL THERAPY

---

▲ (可选)为了提高 CD4+细胞的纯度，洗脱的部分可以在第二个 xM 或 xL 柱上富集。用新的分选柱重复步骤 1 至 6 中描述的磁分选过程。