人 CD4$^+$ 记忆 T 细胞富集分选试剂盒

ImunoSep™ Human Memory CD4$^+$ T Cell Enrichment Kit

货　　号： 710605　　50 次
710610　　100 次
710620　　200 次

储　　存： 2-8°C。避免冷冻。

有 效 期： 详见试剂瓶。

注意事项： 为保证分选的细胞不被污染，请在生物安全柜中执行所有细胞分选步骤。

产品介绍

人 CD4$^+$ 记忆 T 细胞富集分选试剂盒用于阴性分选正常人外周血单个核细胞中的 CD4$^+$ 记忆 T 细胞，其利用生物素化抗体标记非目的细胞，再用 Anti-Biotin 超顺磁纳米微珠结合被标记的非目的细胞；当细胞悬液置于磁场中时，被磁珠结合的非目的细胞滞留在磁场中，人 CD4$^+$ 记忆 T 细胞悬浮在细胞悬液中保持游离，从而将正常人外周血单个核细胞中的 CD4$^+$ 记忆 T 细胞分选出来。富集分选的 CD4$^+$ 记忆 T 细胞不受任何干扰，保持原有的生理功能，可用于下游的细胞培养及其它细胞生物学功能实验。

成　分

1. **ImunoSep™ 人 CD4$^+$ 记忆 T 细胞细胞分选试剂 A**：20μL/次；储存在 2-8°C。

2. **ImunoSep™ 人 CD4$^+$ 记忆 T 细胞细胞分选试剂 B**：20μL/次；储存于 2-8°C。

使用剂量：在 100 μL 体系中，分别使用分选试剂 A（20 μL/次）和分选试剂 B（20 μL/次）标记 1×10^7 细胞。如果细胞数量不足 1×10^7 细胞，使用试剂量请按照一次分选所使用的试剂量标记细胞，进行细胞分选。

相关产品

人 CD4 单克隆抗体，FITC (e.g.11-0048 eBioscience)
人 CD45RA 单克隆抗体，PE (e.g.12-0458 eBioscience)
人 CD45RO 单克隆抗体，eFluor 450 (e.g.48-0457 eBioscience)

实验步骤

以下实验方法是用于富集分选试剂盒阴性分选目的细胞的一般实验步骤。在富集分选中，用分选试剂 A 标记非目的细胞，再用分选试剂 B 结合被标记的细胞。当细胞悬液置于磁场中时，被标记的非目的细胞滞留在磁场中，而目的细胞悬浮在溶液中保持游离。游离的目的细胞可通过快速倾倒的方式从细胞悬液中分离出来。

需要另外准备的试剂和耗材

1) ImunoSep™ Buffer (500 mL) #604050。
2) 分选磁极 #602005。
3) 流式管 (12×75 mm, 5 mL) #352058。
4) 离心管 (15 mL)。

警　告

分选磁极可产生强磁场。远离心脏起搏器、信用卡、磁性 ID 卡、手表、电脑显示器和硬盘等电子设备，以防损坏仪器设备。

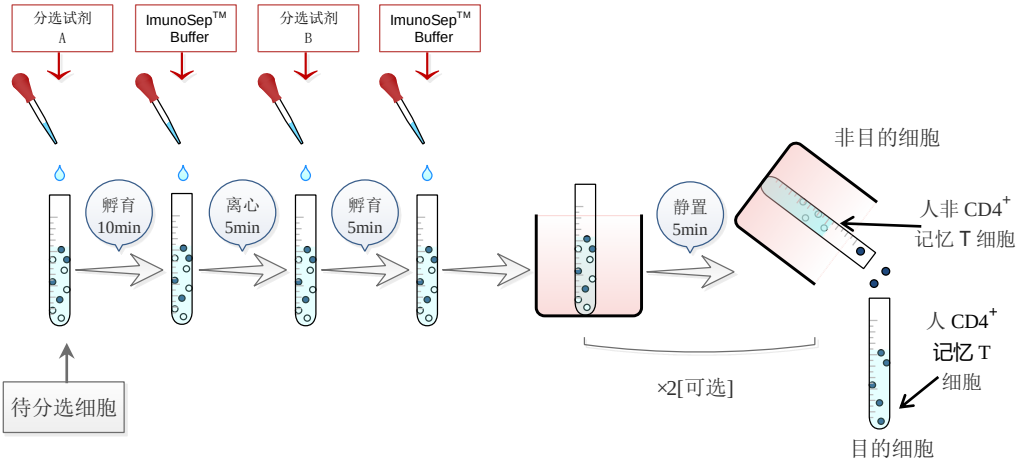
A. 细胞准备

1. 除非另有说明，分选试剂盒优化用于分选正常人单细胞悬液中的目的细胞。
2. 有关正常人外周血单个核细胞的制备，建议彻底清洗单个核细胞，去除血小板，以获得最佳细胞分选效果。
3. 建议使用 ImunoSep™ Buffer（含 EDTA）。

金准生物医药科技（天津）有限公司　网址：http://www.pbmedicals.com
电话：022-84356585　Email：support@pbmedicals.com

B. 细胞分离

实验流程：



1. 用适当体积的分选缓冲液重悬细胞，调整细胞浓度至 1×10^8/mL（每 100μL 细胞悬液中含 1×10^7 细胞），制备单细胞悬液。

   注意：细胞必须是单细胞悬液。如有必要，进行涡旋振荡或用移液管移除团块，然后再继续细胞分选。

2. 在 12×75 mm，5 mL 流式管中放置所需数量的细胞，但不超过 2×10^8 细胞。
3. 每 100 μL 细胞悬液添加 20 μL 分选试剂 A。通过涡旋仪混匀或利用 1 mL Tip 吹打 5 次混匀。在室温下孵育 10 分钟。
4. 加入 ImunoSep™ Buffer 至 4 mL，洗涤细胞，然后在室温下以 300×g 离心 5 分钟。
5. 弃去上清液，用 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞至其初始体积。
6. 每 100 μL 细胞悬液添加 20 μL 分选试剂 B，利用 1 mL Tip 吹打 5 次或涡旋仪震荡混匀。室温孵育 5 分钟。

   注意：分选试剂 B 在添加到细胞悬液前，必须用 1 mL Tip 混合均匀，以确保最佳性能。

7. 添加 ImunoSep™ Buffer 至 2.5 mL。用 1 mL Tip 吹打 3 次混合均匀，请勿涡旋混匀。
8. 将盛有细胞悬液的 5 mL 流式管插入磁极中，使流式管底部通过磁极底部孔道，直至接触到工作台面。在室温条件下静置 5 分钟。
9. 保持流式管在磁极中，将磁极和流式管一同拿起，快速将上清液倾倒入 15 mL 无菌离心管中。流式管倒置时长不可超过 2 秒，随即将其恢复到直立位置。

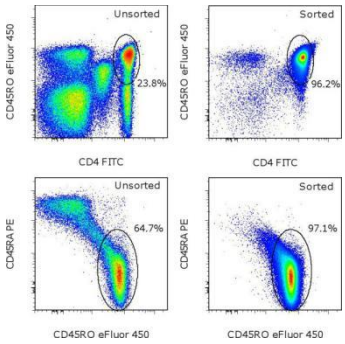
   注意：请勿晃动或摇动磁极中倒置的流式管，以免降低分选细胞的纯度。

10. 从磁极中取出含有结合非目的细胞的流式管，再重复步骤 7 至 9，共进行 2 次分离。将两部分游离于细胞悬液中的细胞汇集在 15 mL 离心管中。

    注意：此步骤可提高细胞回收率，若细胞量足够实验使用，此步可省略。

11. 从磁极中取出含有结合非目的细胞的流式管并丢弃。未被标记游离的人 CD4+ 记忆 T 细胞收集在 15mL 离心管中，供下游实验使用。

分选细胞流式检测报告



用人 CD4+ 记忆 T 细胞富集分选试剂盒分离正常人外周血单个核细胞中的 CD4+ 记忆 T 细胞。利用 FITC 标记的人 CD4 单克隆抗体，PE 标记的人 CD45RA 单克隆抗体和 eFluor 450 标记的 CD45RO 单克隆抗体标记细胞，对分选前（左）或分选后（右）的细胞进行流式分析。

金准生物医药科技（天津）有限公司
电话：022-84356585
网址：http://www.pbmedicals.com
Email：support@pbmedicals.com