EasyDep™ 人 CD4细胞去除试剂盒

Catalog #Dep3002

For processing 1x10^9 cells (SN3002L)

#Version 25.02

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极**去除**混合细胞中的CD4+细胞，如PBMC中的CD4+ T细胞。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记CD4+细胞，再将细胞和链霉亲和素纳米磁珠孵育偶联，然后通过磁极进行无柱分离。分离过程中，不会接触非CD4 细胞，能够最大限度保持剩余细胞最原始的状态。

- CD4细胞去除效率大于95%，最高可到98%
- 18-20分钟完成分离

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
EasyDep™ Human CD4 cell Depletion Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	识别CD4 细胞的优化抗体液，标记CD4细胞
EasyIso™ Streptavidin Nanobeads	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	磁珠结合CD4 细胞，通过磁极去除

BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline　运输条件： 4°C运输

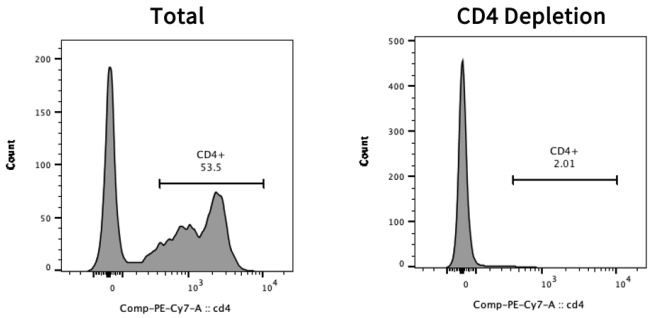
设备和试剂要求

- 缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+2% FBS+0.02% EDTA)
- 耗材：无菌流式管(适配单孔磁极#SCJ0005)或者15 mL离心管（适配磁极#SCJ0015）或者50 mL离心管（适配单孔磁极#SCJ0050）
- 仪器：离心机，磁极

温馨提示

- 推荐采用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心分离PBMC，不建议采用红细胞裂解液
- 建议采用英诺思生物FACS Buffer（#EISO0500），提高细胞得率和存活率。
- 自行配置的FACS Buffer，请确保渗透压稳定和低内毒素，免疫细胞较为敏感。
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

数据展示



如图：PBMC样本去除CD4 T细胞。样本中CD4+细胞比例约为53%，采用CD4 细胞去除试剂盒（DEP3002），样本中CD4-细胞为98±2%，去除效率大于95%。

操作步骤

步骤	操作说明	剂量和时间
1	从外周血通过淋巴细胞分离液密度梯度离心，分离PBMC后，需进行细胞计数。 Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数；PBMC可以采用400 g离心5 min	制备样本
2	采用适量FACS buffer重悬细胞，制备PBMC单细胞悬液至指定浓度。 Note: 分选前样本的细胞浓度不超过1 x 10^8 cells/mL，试剂根据样品体积等比例调整； 如细胞总数为1 x 10^7 cells，则细胞重悬至100 µL体积，后续试剂加10 µL即可； 单次分选细胞量最好不低于1 x 10^7 cells，低于该数值，按照1 x 10^7 cells计算。	1 x 10^8 cells/mL
3	加入EasyDep™ Human CD4 Cell Depletion Cocktail至样品中，轻轻混匀。 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	100 µL/mL
4	Cocktail中的抗体和细胞在冰上孵育10 min	冰上孵育10 min
5	震荡混匀 Streptavidin Nanobeads	混匀5-30 s
6	加Streptavidin Nanobeads至样品中	100 µL/mL
7	轻柔混匀磁珠和细胞，冰上孵育10min Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下; 本步骤中磁珠会出现沉底的情况，可以在2.5min时，再次混匀一下	冰上孵育10 min
8	加入FACS Buffer到样品中，立即放置在磁极上，防止磁珠大量沉底。	总体积加入至2.5 mL （5 mL流式管） 总体积加入至 7.5 mL (15 mL离心管)
9	样品置于磁极上，使磁珠吸附在管壁上。	单孔磁力架吸附（3 min） 联排磁力架吸附（5 min）
10	倾斜磁力架，将样品倒入新的收集管中，收集样品 Note: 分选的细胞可采用400g 离心10分钟，用于后续培养和分析	细胞分离成功

细胞分选试剂使用剂量表(PBMC浓度为1 x 10^8 cells/mL)

细胞总量	细胞体积	Isolation Cocktail	Streptavidin Nanobeads	磁极类型
1 x 10^7 cells	100 µL	10 µL	10 µL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^7 cells	200 µL	20 µL	20 µL	5 mL 单孔磁极
5 x 10^7 cells	500 µL	50 µL	50 µL	5 mL 单孔磁极
1 x 10^8 cells	1 mL	100 µL	100 µL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^8 cells	2 mL	200 µL	200 µL	15 mL 联排磁极
5 x 10^8 cells	5 mL	500 µL	500 µL	15 mL 联排磁极
1 x 10^9 cells	10 mL	1 mL	1 mL	50 mL 单孔磁极
2 x 10^9 cells	20 mL	2 mL	2 mL	50 mL 单孔磁极