

Anti-human CD4 Nanobeads

Catalog PH004

For processing 1×10^8 cells (PH004S)
For processing 5×10^8 cells (PH004M)
For processing 1×10^9 cells (PH004L)

#Version 26.01



Immuno-X™

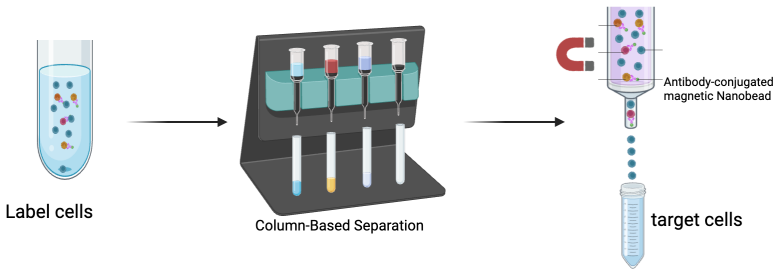
Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

CD4 又称 T4，是一种分子量为 55 kD 的单链 I 型跨膜糖蛋白，表达于大多数胸腺细胞、部分 T 细胞以及单核细胞/巨噬细胞表面。CD4 属于免疫球蛋白超家族成员，可识别与 MHC II 类分子结合的抗原，并参与细胞间相互作用、胸腺分化及信号转导。CD4 是 HIV 的主要受体，能与 HIV 的 gp120 结合。

本产品采用 anti-human CD4 antibody 直接偶联纳米磁珠，可与样本中 CD4+ 细胞特异性结合。在有柱分选的磁场中，CD4+ 细胞会被吸附在分选柱中，其他细胞随重力流出，从而实现 CD4+ 细胞分选或者去除。分选得到的细胞可直接应用于流式细胞检测、DNA/RNA 提取及后续细胞功能实验等下游研究。

- CD4 会在单核细胞中表达，用量较多时，也会阳选出部分单核细胞
- 纯度可达 95%



试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-human CD4 Nanobeads	4°C 保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 CD4 ⁺ 细胞， 通过有柱磁分选获得/去除 CD4 ⁺ 细胞

设备和试剂要求

缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+0.02% EDTA+2% FBS); 耗材：70 μm 无菌尼龙滤网，分选柱；仪器：离心机，磁力架 M1/M8 或者磁力架 L1/L4

温馨提示

- 采用 FACS Buffer 而不是 PBS 进行操作，能够提高细胞得率和活率
- 确保 FACS Buffer 渗透压稳定，免疫细胞较为敏感

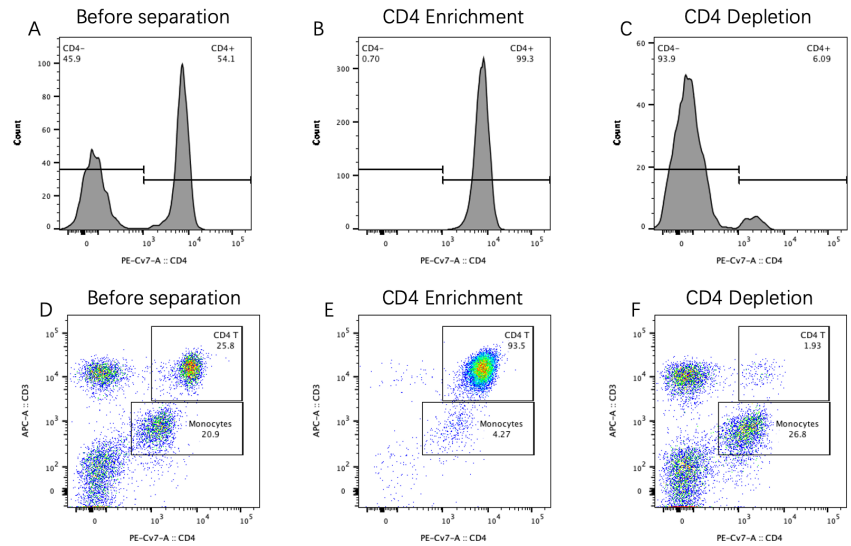
表：分选柱载量参考表

分选柱	标记细胞数量	总细胞数量	磁极	平衡液体积	洗涤液体积
M 分选柱	< 1×10^7 cells	< 2×10^8 cells	磁极 M1/M8	500 μL	3 x 500 μL
L 分选柱	< 1×10^8 cells	< 2×10^9 cells	磁极 L1/L4	3 mL	3 x 3 mL

有柱磁珠分选操作步骤

步骤	操作说明	简易操作方法
1	分离 PBMC 细胞，制备单细胞悬液，并进行细胞计数 <i>Note: 推荐细胞采用 AO/PI 染色后进行计数；细胞可以采用 400 g 离心 5 min</i>	制备样本
2	采用 FACS buffer 重悬细胞，制备单细胞悬液至指定浓度 1×10^8 cells/mL <i>Note: 如细胞总数为 1×10^7 cells，则细胞重悬至 100 μL 体积</i>	1×10^8 cells/mL
3	加入终浓度 100 μ L/mL 的 anti-human CD4 Nanobeads 至样品中，并轻轻混匀 <i>Note: 如细胞总数为 1×10^7 cells，则细胞重悬至 100 μL 体积，加入 10μL 磁珠； 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下</i>	100 μ L/mL
4	磁珠和细胞在 4°C 孵育 10 min	4°C 孵育 10 min
5	加入 5 倍体积 FACS Buffer 到细胞中，400 $\times$ g 离心 5 分钟后，去除上清	洗涤细胞
6	将细胞重悬于 FACS buffer 中 <i>Note: 若细胞总数小于 1×10^8，则采用 500 μL FACS buffer； 若细胞总数大于 1×10^8，需按比例放大缓冲液体积</i>	重悬细胞
7	将分选柱放入对应磁力分选器磁场中，用 FACS Buffer 润洗分选柱 <i>Note: S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	润洗分选柱
8	将细胞悬液加入至分选柱中，非目的细胞（CD4-细胞）随重力流出，CD4+保留在分选柱中 <i>Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 CD4+去除的细胞</i>	上样
9	加入 FACS Buffer 洗涤柱子 3 次 <i>Note: 待柱内液体完全流空后再加下一次；S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	洗涤
10	向柱内加入 FACS Buffer，从磁极上取下分选柱，用配套柱塞快速、用力推压，洗脱磁性标记的阳性细胞 <i>Note: S 分选柱加入 1 mL；L 分选柱加入 3 mL</i>	收集目的细胞
11	(可选) 在部分样本中，CD4+细胞比例较低时，可以更换新的分选柱，重复步骤 7-10，可以得到更纯的细胞	进一步纯化

数据展示(PBMC)



如图：采用 anti-human CD4 nanobeads 产品(#PH004)分离 PBMC 中的 CD4+细胞。（A）在 CD3 圈门之下，分选前，CD4 比例约为 54.1%；(B)分选后的 CD4 T 细胞纯度为 99.3%；（C）流穿液中仅剩余 6.09%的 CD4 T 细胞。

由于单核细胞会表达 CD4，本产品经过优化，可以主要富集 PBMC 中的 T 细胞。（D）分选前 PBMC 中的 CD4 T 细胞占比 25.8%，单核细胞占比 20.9%；（E）分选后的 CD4 T 细胞纯度达到了 93.5%，仍有 4.27%的 CD4+单核细胞；流穿液中剩余 1.93%的 CD4+ T 细胞，单核细胞基本保留。