EasyIso™ 小鼠naïve CD4 T细胞分离试剂盒

Catalog #SN4104

For processing 1x10^8 cells (SN4104S)

For processing 5x10^8 cells (SN4104M)

For processing 1x10^9 cells (SN4104L)

#Version 26.02

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极分选小鼠脾脏中的naïve CD4 T细胞。分离过程中抗体和磁珠不会接触naïve CD4 T细胞，能够最大限度保持naïve CD4 T细胞最原始的状态。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记非naïve CD4 T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。目标细胞只需倒入一个新的管中即可分离，分离后的细胞可立即用于后续应用，如流式细胞术、细胞培养和功能实验等。

- 纯度大于90%，最高可到99%
- 18-20分钟完成分离
- Naïve CD4 T细胞比例和小鼠状态密切相关，需要留存细胞分选前样品，用于检测初始Naïve CD4 T细胞比例

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
EasyIso™ Mouse CD16/CD32 Blocker	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	封闭FcR受体，降低抗体非特异性结合
EasyIso™ Mouse CD4 T Cell Isolation Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	抗体标记非CD4 T细胞抗体混合液，标记非目的细胞
EasyIso™ Mouse Memory T Cell Depletion Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	去除记忆T细胞
EasyIso™ Streptavidin Nanobeads	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	磁珠结合非naïve CD4 T细胞，通过磁极去除

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

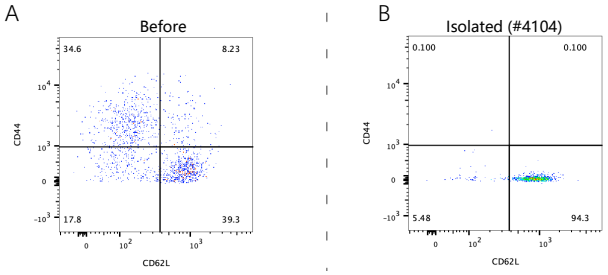
设备和试剂要求

- 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

- 小鼠脾脏研磨后采用70 μm无菌尼龙滤网过滤即可用于细胞分选，无需采用红细胞裂解液
- 建议采用英诺思生物FACS Buffer（#EISO0500），提高细胞得率和存活率。若自行配置的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：采用Immuno-X系列产品（#SN4104）分选小鼠脾脏中的naïve CD4 T 细胞并进行体外培养。（A-B）分选前小鼠脾脏中naïve T细胞占CD4 T细胞比例约为39.3%，采用（#SN4104）分选后，T细胞高达94.3%。

操作步骤

步骤	操作说明	剂量和时间
1	取小鼠脾脏，至于70 μm无菌滤网上研磨，制备脾脏单细胞悬液 Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数；脾细胞可以采用400 g离心5 min	制备样本
2	采用适量FACS buffer重悬细胞，制备脾脏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EasyIso™ Mouse CD16/CD32 Blocker至样品中，轻轻混匀	100 μL/mL
4	加入EasyIso™ Mouse CD4 T cell Isolation 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
5	Cocktail中的抗体和细胞孵育	常温孵育7.5 min
6	加入EasyIso™ Mouse Memory T Cell Depletion Cocktail至样品中，轻轻混匀 Note: 本步骤孵育时间较短，长时间孵育会降低细胞得率；对于炎症模型小鼠，记忆T细胞比例较多， 可以酌情增加Memory T Cell Depletion Cocktail的量，但细胞得率会低	100 μL/mL，常温孵育2.5 min
7	震荡混匀 Streptavidin Nanobeads	混匀5-30 s
8	加Streptavidin Nanobeads至样品中	100 μL/mL
9	轻柔混匀磁珠和细胞，常温孵育5 min Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	常温孵育5 min
10	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)
11	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）
12	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(初始细胞浓度为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