

鼠 Naïve CD4 T 细胞阴选试剂盒（无柱）

Mouse Naïve CD4 T Cell Negative Selection Kit (Column-free)

货号	HXL-0000MFN4-0.1 / HXL-0000MFN4-1	规格	0.1 mL / 1 mL；最高处理 1×10^8 个起始细胞
用途/方式	阴性选择 • 无柱法	推荐用量	1×10^8 细胞 / 标准反应
适用样本	小鼠脾脏、淋巴结或其他组织单细胞悬液	保存条件	2-8℃保存；禁止冷冻

仅供科研使用（RUO），不用于临床诊断或治疗。

一、产品信息

项目	内容
产品名称	鼠 NAIVE CD4 T 细胞阴选试剂盒
品牌/公司	RedConju /弘溪联生物科技（上海）有限公司
产品货号	HXL-0000MFN4-0.1/1
分选方式	阴性选择；目标细胞保留在上清中
适用样本	小鼠脾脏、淋巴结或其他组织制备的单细胞悬液
处理能力	1×10^8 起始细胞/盒
推荐细胞浓度	100 M/mL，即 1×10^8 cells/mL
储存条件	2-8 °C保存；请勿冷冻；使用前充分混匀，避免产生气泡
用途限制	仅供科研使用（RUO）

二、试剂盒组分

组分	规格	说明
Mouse CD4 T cell Isolation Cocktail Antibody	1 mL	用于标记非目标细胞（Mouse NAIVE CD4 T）；按起始细胞数等比例加入
Mouse Memory T Cell Depletion Cocktail Antibody	1mL	用于标记memory T cell）；按起始细胞数等比例加入
SA 磁珠	1 mL	结合生物素化抗体标记的非目标细胞；按起始细胞数等比例加入
说明书	1份	操作流程、用量换算及注意事项

三、分选原理

本试剂盒通过生物素化 Cocktail 抗体标记小鼠样本中的非NAIVE CD4 T细胞，再由链霉亲和素（SA）磁珠捕获并磁性去除。未被磁珠结合的细胞保留在上清中，即为富集后的鼠 Naïve CD4 T 细胞。

关键原则
以 1×10^6 个起始细胞为一个标准反应单位。 更多细胞时，细胞悬液体积、Cocktail 抗体、SA 磁珠和分选 Buffer 均需按比例同步增加。 最终收集第二次磁吸后的上清，上清即为富集后的目标T细胞。

四、操作前准备

项目	要求
细胞状态	制备单细胞悬液，建议去除明显组织碎片、细胞团块和红细胞污染
计数	准确计数起始总细胞数，并按 100 M/mL 调整细胞浓度
分选 Buffer	0.1% BSA-PBS buffer 或 2% FBS-PBS buffer, pH 7.4
温度	Cocktail 抗体孵育：2-8 °C；SA 磁珠孵育和磁吸：室温
混匀	抗体和磁珠加入前应轻轻颠倒或涡旋低速混匀，避免剧烈振荡导致细胞损伤

五、标准反应体系（ 1×10^6 cells）

组分/条件	用量/参数
细胞悬液	100 μ L, 100 M/mL (1×10^6 cells/mL)
Mouse CD4 T cell Isolation Cocktail Antibody	10 μ L
Mouse Memory T Cell Depletion Cocktail Antibody	10 μ L
SA 磁珠	10 μ L
分选 Buffer	130 μ L, 0.1% BSA-PBS 或 2% FBS-PBS, pH 7.4
磁吸前总体积	260 μ L

六、操作流程

步骤	操作内容	条件	时间	结果/说明
1	取 100 μL 细胞悬液（100 M/mL）于合适离心管中	冰上或2-8 °C暂存	—	对应 1 × 10 ⁶ 起始细胞
2	加入 10 μL CD4 T cell Isolation Cocktail Antibody，轻轻混匀	2-8 °C	8 min	标记非目标细胞
3	加入 10 μL Memory T Cell Depletion Cocktail Antibody，轻轻混匀	2-8 °C	3 min	标记Memory T Cell
4	加入 10 μL SA 磁珠，轻轻混匀	室温	5 min	磁珠结合被标记的非目标细胞
5	加入 130 μL 分选 Buffer，轻轻吹打混匀	室温	—	Buffer: 0.1% BSA-PBS 或 2% FBS-PBS, pH 7.4
6	第一次磁吸	室温；普通磁力架	3 min	若使用联排磁力架，建议 5 min
7	将上清转移至新的离心管	室温	—	避免吸入磁珠或扰动磁珠沉积区
8	第二次磁吸	室温	2 min	进一步去除残余磁珠结合细胞
9	收集上清	室温或置冰	—	上清即为富集后的鼠 CD4 ⁺ T 细胞

七、用量换算表

起始细胞数	细胞悬液体积 100 M/mL	CD4 T cell Isolation Cocktail Antibody	Memory T Cell Depletion Cocktail Antibody	SA 磁珠	分选 Buffer
1 × 10 ⁶	100 μL	10 μL	10 μL	10 μL	130 μL
5 × 10 ⁶	500 μL	50 μL	50 μL	50 μL	650 μL
1 × 10 ⁷	1 mL	100 μL	100 μL	100 μL	1.3 mL
2 × 10 ⁷	2 mL	200 μL	200 μL	200 μL	2.6 mL
5 × 10 ⁷	5 mL	500 μL	500 μL	500 μL	6.5 mL
1 × 10 ⁸	10 mL	1 mL	1 mL	1 mL	13 mL

用量公式：Cocktail 抗体（μL）= 10 × 起始细胞数 / 1 × 10⁶；SA 磁珠（μL）= 10 × 起始细胞数 / 1 × 10⁶；分选 Buffer（μL）= 130 × 起始细胞数 / 1 × 10⁶。

八、关键注意事项

事项	建议
细胞数增加	必须同步增加 Cocktail 抗体、SA 磁珠和分选 Buffer；不要只增加细胞而不增加试剂。
反应体积较大	当总体积超过单管舒适操作体积时，建议分管操作，磁吸后再合并上清。
细胞浓度	推荐维持 100 M/mL；细胞过浓会增加非特异吸附和磁吸不完全风险。
磁吸时间	普通磁力架第一次磁吸 3 min；联排磁力架磁场较弱或管间距离较大时，第一次磁吸建议 5 min。
上清转移	吸取上清时枪头不要接触磁珠沉积区；残留磁珠会影响后续流式检测和细胞培养。
Buffer选择	0.1% BSA-PBS 适合多数分选；对细胞状态敏感或后续培养场景，可使用 2% FBS-PBS。