

小鼠 CD4+ CD25+ Treg 细胞分选试剂盒（柱式,组合）说明书

产品信息

产品名称	产品型号	产品组分	组分规格
小鼠 CD4+ CD25+ Treg 细胞分选试剂盒-100T（柱式,组合）	K1308-10	小鼠 CD4 细胞分选抗体混合物	500 μL
		链霉亲和素纳米磁珠	500 μL
		小鼠 CD25-PE 抗体	200 μL
		抗 PE 磁珠	1 mL
小鼠 CD4+ CD25+ Treg 细胞分选试剂盒-10T（柱式,组合）	K1308-10T	小鼠 CD4 细胞分选抗体混合物	50 μL
		链霉亲和素纳米磁珠	50 μL
		小鼠 CD25-PE 抗体	20 μL
		抗 PE 磁珠	100 μL

产品描述

小鼠 CD4+ CD25+ Treg 细胞分选试剂盒（柱式,组合）通过两步法进行细胞分离。第一步负选富集，使用分选抗体混合物与链霉亲和素纳米磁珠标记并去除样本中的非 CD4+ T 细胞（同时用小鼠 CD25-PE 抗体标记 CD25+细胞），搭配 LD 分选柱获得富集的 CD4+T 细胞；第二步正选分离，向富集的 CD4+T 细胞中加入抗 PE 磁珠，通过 MS 分选柱进行二次过柱，从而完成 CD4+CD25+细胞和 CD4+CD25-的纯化和分离。

本产品可以快速、简便、大量地从小鼠脾脏、淋巴等组织悬液中分离出小鼠 CD4+CD25+细胞，分离后的细胞可直接用于流式分析、细胞培养等下游实验。

测试容量

- ✧ K1308-10 最多可处理 1×10^9 个总细胞。
- ✧ K1308-10T 最多可处理 1×10^8 个总细胞。

运输和保存

- ✧ 本产品应 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 运输。
- ✧ 本产品应 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 避光存储，不可冷冻。
- ✧ 本产品从生产之日起有效期 12 个月。

实验所需耗材和仪器

试剂	耗材	仪器设备
分选缓冲液	LD 分选柱（必选）	荧光细胞计数器（瑞沃德）
碎片高效去除试剂盒（瑞沃德）	MS 分选柱（瑞沃德） 分选磁极（瑞沃德）	单细胞悬液制备仪（瑞沃德）

实验操作

实验前准备

- 准备分选缓冲液：在 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 下，用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜对 pH7.2~7.4 的 PBS（含 0.5% BSA 和 2 mM EDTA）进行过滤除菌，并在 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 存储。

⚠ 注意：不建议使用含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和生物素的分选缓冲液。

样本准备

- 样本为外周血时，建议使用密度梯度离心获得外周血单个核细胞（PBMC）；样本为脾脏、淋巴等实体组织时，可使用单细胞悬液制备仪获得单细胞悬液再分选（富集）目的细胞。
- 将细胞悬液通过 $40 \mu\text{m}$ 细胞滤器以去除碎片和团块。
⚠ 注意：死细胞与抗体或磁珠可能存在非特异性结合，建议对样本进行密度梯度离心或使用碎片高效去除试剂盒（瑞沃德：#DHDR-5006）以去除死细胞。

CD4+ T细胞富集

⚠ 注意：以下步骤的推荐用量可处理 1×10^7 总细胞，若细胞数量小于 1×10^7 则按 1×10^7 计算；若细胞数量大于 1×10^7 ，请按相应比例增加试剂用量。单次可处理最大样本量为 1×10^8 。

⚠ 注意：如果用于 CD4+ CD25+去除实验，可加倍使用小鼠 CD4 细胞分选抗体混合物与链霉亲和素纳米磁珠，以提高去除效果。

- 调整细胞浓度：将样本的细胞浓度调整至 1×10^8 cells/mL。
- 抗体标记：取 100 μL 样本加入 1.5 mL 离心管中，加入 5 μL 小鼠 CD4 细胞分选抗体混合物，混合均匀后 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 孵育 10 min。
- 磁珠标记：向样本中加入 5 μL 链霉亲和素纳米磁珠与 2 μL 小鼠 CD25-PE 抗体，混合均匀后 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 孵育 15 min。
⚠ 注意：为确保标记效果，建议孵育期间轻柔混匀 2~3 次。
- 重悬：反应结束后加入 1~2 mL 分选缓冲液混匀。
- 分选柱润洗：将 LD 分选柱置于配套的磁极上，向柱内加入 2 mL 分选缓冲液进行润洗，舍弃流出液。
- CD4+ T 细胞收集：将步骤（4）反应后的液体加入 LD 分选柱中，收集流出液，并添加 1~2 mL 分选缓冲液冲洗两次，收集流出液（含未被磁珠标记的 CD4+ T 细胞）。

⚠ 注意：需等柱内液体完全流尽后再添加下一次缓冲液。

CD4+ CD25+细胞分选

- 细胞浓缩：将“CD4+ T 细胞富集”收集到的细胞 $500 \times g$ ， $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 离心 5 min，弃上清。
- 磁性标记：使用 100 μL 分选缓冲液重悬细胞，加入 10 μL 抗 PE 磁珠，混合均匀后 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 孵育 15 min。
- 重悬：反应结束后加入 1 mL 分选缓冲液混匀。
- 分选柱润洗：将 MS 分选柱置于配套的磁极上，向柱内加入 500 μL 分选缓冲液进行润洗，舍弃流出液。
- CD4+ CD25+细胞收集：将步骤（3）反应后的液体加入 MS 分选柱中，并添加 1 mL 分选缓冲液冲洗两次，收集所有流出液（即 CD4+CD25-细胞）；将分选柱从磁极上取下，加入 1 mL 分选缓冲液，并使用配套的推杆将液体从分选柱中推出，收集推出的流出液（即 CD4+ CD25+细胞）。

⚠ 注意：需等柱内液体完全流尽后再添加下一次缓冲液。

(可选) 为进一步提高分选后 CD4+ CD25+细胞纯度，可将步骤 (5) 收集到的 CD4+ CD25+细胞使用新的 MS 分选柱进行二次过柱。

⚠ 注意：整个反应及冲洗过程避免产生过多气泡。

结果展示

使用小鼠 CD4+ CD25+ Treg 细胞分选试剂盒（柱式,组合）和 RWD 分选磁极、分选柱从 6~8 周的 C57BL/6 小鼠脾脏细胞中分离 CD4+ CD25+细胞。分选后的细胞使用 PE anti-mouse CD25 Antibody（克隆号：#PC61）、APC anti-mouse CD4 Antibody（克隆号：#GK1.5）标记后进行流式检测，分选前后 CD4+ CD25+细胞（CD4+ CD25+）的占比分别为 2.15%和 95.45%。

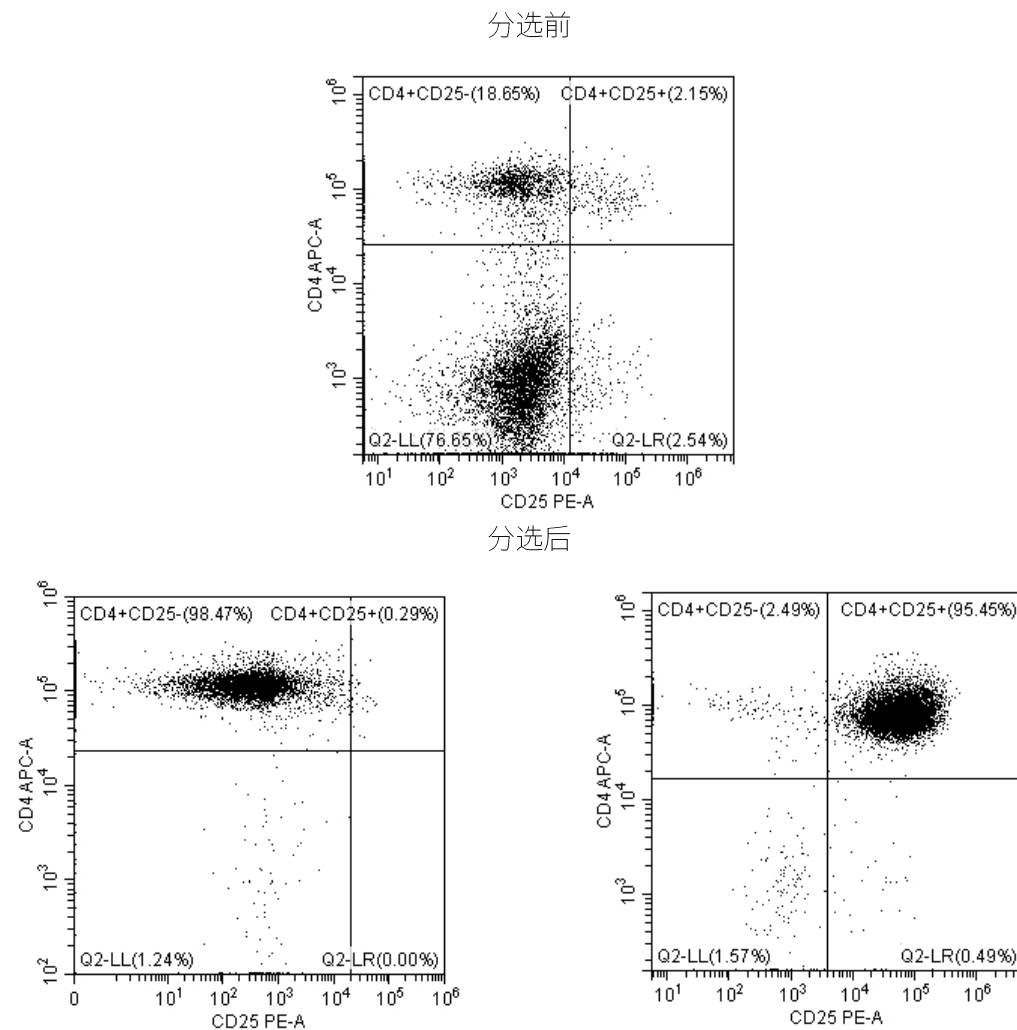


图 (a) 细胞分选前后对比

注意事项

- (1) 本产品只用于科研，不作任何诊断或治疗用途。
- (2) 本试剂盒有效期为 12 个月，瑞沃德不保证过期产品的有效性。
- (3) 应保证在无菌条件下完成所有操作。
- (4) 不同型号和批号的试剂盒不可混用。

©2026 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区打石一路深圳国际创新谷七栋 A 座 1901 房

(A 座 9 层、19 层、20 层，D 座 9 层) 邮编：518000

电话：0755-86111281 400 966 9516 售后邮箱：service@rwdls.com

网址：www.rwdls.com 在线商城：www.rwdmall.com