

# 人外周血 CD4+T 细胞说明书

## 【产品名称】

中文名称：人外周血 CD4+T 细胞

英文名称：Human Peripheral Blood CD4+ T Cells

## 【预期用途】

可作为多种领域研究所需的原材料。

## 【贮藏条件与有效期】

置于液氮保存，有效期为 24 个月；

生产日期，有效期至：见标签。

## 【产品简介】

CD4 分子系细胞表面糖蛋白，MHC II 类限制性抗原诱导 T 细胞活化的共受体。正常表达见于在皮质胸腺细胞表面与 CD8 同时表达，而在大部分末期胸腺细胞和成熟 T 细胞只表达 CD4 而不表达 CD8。幼稚髓系细胞、嗜酸粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和郎罕氏细胞均可表达 CD4。

异常表达见于急性 T 淋巴细胞白血病的原始细胞、成熟 T 细胞淋巴瘤的肿瘤细胞，有时也可表达于急性髓细胞白血病的原始细胞，尤其是 M4 或 M5，亦可表达于郎罕氏组织细胞增多症。三一造血利用自有的 Flosep-C 细胞分离纯化技术从外周血中纯化出 CD4+ 辅助 T 细胞，经流式检测，其纯度大于 85%，纯化后置于液氮保存。

## 【操作步骤】

### 所需试剂：

(1) IMDM, α-MEM 或 RPMI-1640      (2) FBS      (3) DNase I

### 操作流程：

1 准备好 37° C 水浴，将 RPMI-1640 与 FBS 温浴至 37° C；

2 生物安全柜中，配制含 10% FBS 的培养基 (IMDM, α-MEM 或 RPMI-1640 均可)，待用；

3 从液氮中取出 CD3+CD4+T 细胞冻存管，置于 -80° C 超低温冰箱中数分钟，使冻存管中的液氮挥发，而后迅速将其置于 37° C 温水中，并快速水平晃动，使其内含物尽快融化，直至冻存管固体内含物余下一小冰屑后取出冻存管；

### 注意：

- 1) 从液氮中取出冻存管时，往往在冻存管里含有液氮，最好先将冻存管先置于超低温冰箱中，使液氮挥发，再进行水浴化冻的操作；
- 2) 尽可能将冻存管的内含物全部浸没于 37° C 温水中，使内含物均匀融化；
- 3) 请勿使温水没过冻存管盖的螺口，以防污染；

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



- 4) 细胞复苏的操作过程要迅速, 避免影响细胞复苏后的活性。
  - 5) 采用正选 (Positive selection) 方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠, 故可能冻存管中细胞颜色较深, 此为正常现象, 不影响后续复苏和使用。
- 4 在将冻存管拿进生物安全柜之前, 用 75% 酒精对其表面进行消毒;
- 5 轻轻重悬细胞, 并将其移入装有 100  $\mu$ g DNase I 的 50mL 离心管里;

**注意:**

- 1) 加入 DNase I 可有效减少细胞复苏后细胞团块的产生;
- 2) DNase I 的使用是非必须的, 对于 DNA, RNA 等的提取目的可不使用。

6 用 1mL 培养基冲洗冻存管, 并将此悬液以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中, 并且同时轻轻摇晃离心管, 使滴加的悬液混匀;

7 吸取 15-20mL 的培养基以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中, 并且同时轻轻摇晃离心管, 使滴加的悬液混匀;

**注意:** 第 5, 6, 7 步骤可使细胞中的 DMSO 缓慢均匀的渗透出来, 最大程度保证细胞安全, 但操作较为缓慢, 若有多个样品需要处理时, 可以将操作步骤更改为:

5' : 轻轻重悬细胞, 并将其移入装有 100  $\mu$ g DNase I 的 15mL 离心管里;

6' : 用 1mL 培养基冲洗冻存管, 并将此悬液合并到到 15mL 离心管里;

7' : 吸取 10mL 培养基, 直接加入到 15mL 离心管中, 反复轻柔吹打或上下颠倒混匀, 室温孵育 10min;

8 室温下, 300g 离心 10min;

9 迅速使用移液枪吸走上清, 剩余少许液体, 并轻轻吹打液体使细胞悬浮;

**注意:**

- 1) 离心结束后, 尽快吸走上清;
- 2) 吹打液体时动作要轻, 避免损伤细胞, 并且吹打时尽可能避免气泡产生。

10 缓慢加入 15-20mL 新鲜培养基 (快速法中则只要在 15mL 离心管中加入 10mL 培养基即可), 并同时轻轻摇晃离心管;

11 室温下, 300g 离心 10min;

**注意:** 采用正选 (Positive selection) 方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠, 故离心后管中细胞沉淀颜色较深, 此为正常现象, 不影响后续使用。

12 迅速使用移液枪吸走上清, 剩余少许液体, 并轻轻吹打液体使细胞悬浮, 此 CD3+CD4+T 细胞即可用于下游实验。

### 【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

### 【重要说明】

- 1 本项服务所需细胞材料必须符合国家遗传资源相关法律规定。如有需要, 三一造血可协助使用方取得伦理批件及申请人类遗传资源行政许可;
- 2 细胞分离服务所得细胞仅限用于科学研究使用, 不得用于临床诊断及临床治疗, 否则由此引起一切后果由使用方承担。

