

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 μ 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 μ 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。

