

## FlowCyto™ Rat anti-Dog CD5-PerCP-eFluor 710

货号:

AD0605125 25 Tests

AD0605110 100 Tests

### 【产品介绍】

CD5 是一种 67 kDa 的人源 T 淋巴细胞单链跨膜糖蛋白。该蛋白存在于所有成熟 T 淋巴细胞、大多数胸腺细胞以及多种 T 细胞白血病和淋巴瘤细胞表面。CD5 亦可与活化 B 细胞亚群发生反应，并可能作为受体参与 T 细胞增殖的调控。该蛋白表达于 95% 的胸腺细胞和 72% 的外周血淋巴细胞。在淋巴结中，其主要反应活性集中于 T 细胞区域。CD5 表达见于多种 T 细胞白血病、淋巴瘤及活化 T 细胞。与 CD5 功能障碍相关的疾病包括胸腺癌和里氏综合征。

种属反应: 犬 偶联物: PerCP-eFluor 710

宿主/亚型: 大鼠 / IgG2a, 分类: 单抗 kappa

浓度 5 μL/Test 克隆 YKIX322.3

储存条件: 4°C避光保存, 切勿冷冻。

### 【应用】

实验应用	建议稀释比
流式细胞分析 (Flow)	5 μL (0.125 μg)/test

### 【流式实验步骤】

1. 制备单细胞悬液。

2. [可选]阻断 Fc 受体介导的非特异性结合:

小鼠细胞: 染色前, 每 100 μL 细胞标本加入 0.5-1 μg 抗小鼠 CD16/CD32 纯化抗体 (# AM1016110), 在 2-25°C 温度下预先孵育细胞 10-20 分钟。

人细胞: 染色前, 每 100 μL 细胞标本加入 20 μL 人 Fc 受体结合抑制剂, 在 2-25°C 温度下预先孵育细胞 10-20 分钟。

3. 每管或每孔加入 50 μL 细胞悬液(10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> 细胞)。

4. 将每种抗体按照推荐使用量混合于流式染色液 (#222057) 中, 使细胞染色液的终体积达到 100 μL(例如, 50 μL 细胞加入 50 μL 抗体混合液), 轻轻涡旋以混合均匀。

注: 纯化裸抗或生物素标记的一抗直接至第 8 步。

#### A. 荧光直标抗体检测

5. 2-8°C 或冰上避光孵育 20-30 分钟。

6. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 μL。室温 400-600xg 离心 5 分钟。弃上清。

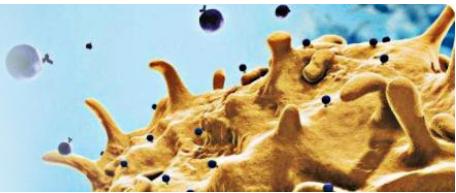
7. 重复第 6 步。

注: 如果所有抗体为荧光直标, 则直接至第 14 步。

#### B. 纯化或生物素化抗体检测

8. 在 2-8°C 或冰上孵育 60 分钟。

9. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 μL。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

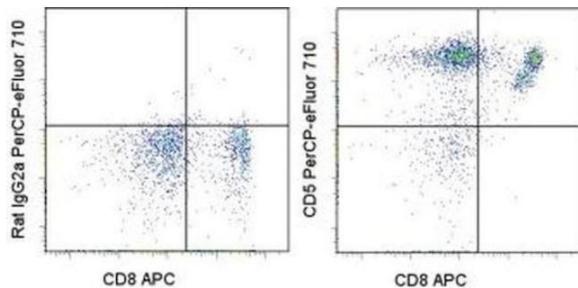


10. 重复第 9 步。
11. 使用 100  $\mu\text{L}$  流式细胞染色液稀释适量的荧光二抗，重悬细胞。2-8°C或冰上避光孵育 20-30 分钟。
12. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每管加入 2 mL，或微量孔板的每个微孔加入 200  $\mu\text{L}$ 。
13. 室温 400-600xg 离心 5 分钟，弃上清。
14. [可选]依照相应的细胞活性染料，如 7-AAD (#225693) 或 FVD 染料，对细胞染色以区分死活细胞。
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100  $\mu\text{L}$  流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100  $\mu\text{L}$  IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注：细胞可以在 2-8°C避光保存 12 小时，固定后的细胞可以在 2-8°C避光保存 3 天。

16. 用适量的流式细胞染色液重悬细胞（如使用 300  $\mu\text{L}$  染色液重悬细胞）。
17. 使用流式细胞仪检测分析样本。

### 【流式实验数据】



使用抗犬 CD8a APC 抗体与大鼠 IgG2a  $\kappa$  同型对照 PerCP-eFluor 710（左图）或抗犬 CD5 PerCP-eFluor 710 抗体（右图）对正常犬外周血细胞进行染色。分析采用淋巴细胞门内的细胞群体。