

## FlowCyto™ Rat anti-Dog MHC Class II-FITC

货号:

AD0111125 25 Tests

AD0111110 100 Tests

### 【产品介绍】

主要组织相容性复合体 II 类分子是跨膜糖蛋白，在专职抗原呈递细胞（如巨噬细胞、树突状细胞和 B 细胞）表面表达。在暴露于细胞表面之前，MHC II 类分子与内吞的外源性抗原结合，随后将这些抗原呈递给 T 细胞。MHC II 类分子 α 链与 β 链之间的抗原结合槽两端开放，可容纳 15-24 个氨基酸残基。

种属反应: 犬 偶联物: FITC

宿主/亚型: 大鼠 / IgG2a, 分类: 单抗 kappa

浓度 5 μL/Test 克隆 YKIX334.2

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 (0.5 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。

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

- 2-8°C 或冰上避光孵育 20-30 分钟。
- 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

- 在 2-8°C 或冰上孵育 60 分钟。
- 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 μL 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 μL。

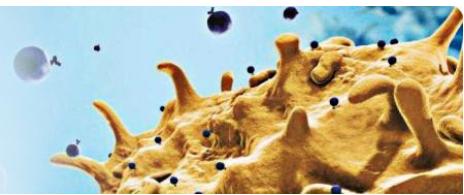
13. 室温 400-600xg 离心 5 分钟，弃上清。



Precision BioMedicals Co.,Ltd.

B M

金准生物医药科技(天津)有限公司



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。

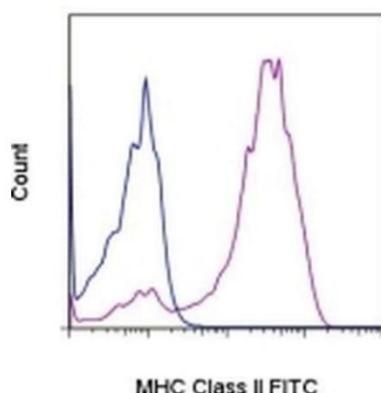
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100  $\mu\text{L}$  流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100  $\mu\text{L}$  IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



犬外周血细胞分别使用大鼠 IgG2a K 同型对照 FITC (蓝色直方图) 或抗犬 MHC II 类分子 FITC (紫色直方图) 进行染色。分析采用淋巴细胞门内的细胞。

仅供研究使用, 不可用于治疗或诊断。

-2-