

## FlowCyto™ Mouse anti-Dog CD25-Super Bright 600

货号:

AD3025125 25 Tests

AD3025110 100 Tests

### 【产品介绍】

CD25(IL2 受体  $\alpha$  链/IL2RA)是一种细胞因子,在 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖中发挥作用。该细胞因子的受体(IL2RA)是一个异源三聚体蛋白复合物,其  $\gamma$  链也与白细胞介素 4 (IL4) 和白细胞介素 7 (IL7) 共享。IL2RA、IL2R  $\beta$  链(IL2RB)和 IL2R  $\gamma$  链(IL2RG)共同构成高亲和力的 IL2 受体。IL2RA 链的同源二聚体形成低亲和力受体,而 IL2RB 链的同源二聚体则产生中等亲和力受体。

种属反应: 犬 偶联物: Super Bright 600

宿主/亚型: 小鼠 / IgG1, 分类: 单抗  
kappa

浓度 5  $\mu$ L/Test 克隆 P4A10

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 $\mu$ L (0.125 $\mu$ g)/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  $\mu$ L 细胞标本加入 0.5-1  $\mu$ g 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  $\mu$ L 细胞标本加入 20  $\mu$ L 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  $\mu$ L 细胞悬液( $10^5$ - $10^8$  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  $\mu$ L(例如, 50  $\mu$ L 细胞加入 50  $\mu$ L 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  $\mu$ L。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。

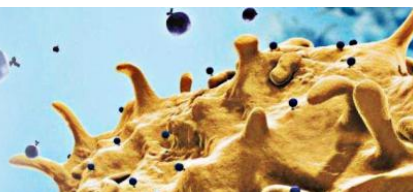
### B. 纯化或生物素化抗体检测

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  $\mu$ L。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。
10. 重复第 9 步。
11. 使用 100  $\mu$ 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。



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



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  $\mu$ 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。

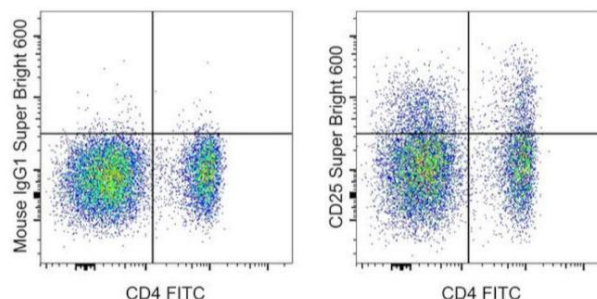
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100  $\mu$ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100  $\mu$ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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  $\mu$ 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 CD4 FITC 抗体和 Mouse IgG1 K 同型对照 Super Bright 600 抗体（左图）或抗犬 CD25 Super Bright 600 抗体（右图）对正常犬外周血细胞进行染色。用于分析的为通过 7-AAD 确定的活细胞。