**FlowCyto™ Rat anti-Dog CD4-Super Bright 645****货号:**

AD2904125 25 Tests

AD2904110 100 Tests

【产品介绍】

CD4 抗原参与 MHC II 类分子的识别, 并作为 HIV 病毒的共受体。该抗原主要表达于 T 淋巴细胞亚群(即辅助性 T 细胞), 也可在免疫系统的其他细胞中表达, 如单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞。在组织层面, CD4 表达可见于胸腺、淋巴结、扁桃体和脾脏, 以及大脑特定区域、肠道和其他非淋巴组织中。CD4 通过与 T 细胞受体复合物及蛋白酪氨酸激酶 Lck 结合, 启动或增强 T 细胞活化的早期阶段。在中枢神经系统感染性和免疫介导性疾病中, 它还可能作为神经元直接损伤的重要介质。

种属反应: 犬 **偶联物:** Super Bright 645

宿主/亚型: 大鼠 / IgG2a, **分类:** 单抗
kappa

浓度 5 µL/Test **克隆** YKIX302.9

储存条件: 4℃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 (0.06 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℃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℃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(10^5 - 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 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℃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

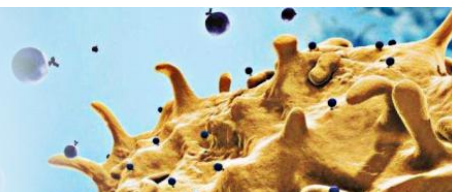
8. 在 2-8℃或冰上孵育 60 分钟。

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。



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



10. 重复第 9 步。

11. 使用 100 μ L 流式细胞染色液稀释适量的荧光二抗，重悬细胞。2-8 $^{\circ}$ 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 μ 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。

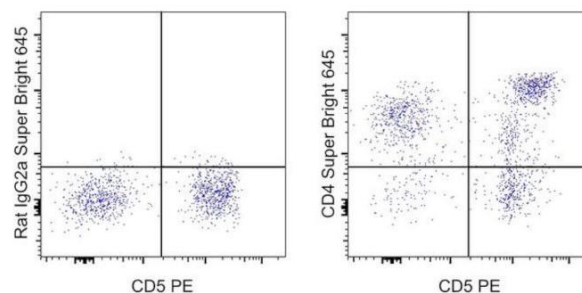
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注：细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ C避光保存 12 小时，固定后的细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ 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 μ 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 CD5 单克隆抗体 PE 标记及 0.06 μ g 大鼠 IgG2a κ 同型对照 Super Bright 645（左图）或 0.06 μ g CD4 单克隆抗体 Super Bright 645（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。