**FlowCyto™ Mouse anti-Human CD3 -FITC****货号:**

AH0103125 25 Tests

AH0103110 100 Tests

**【产品介绍】**

CD3 复合物由  $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  和  $\zeta$  亚基共同构成，这些结构相关的免疫球蛋白超家族成员由人类 11 号染色体上紧密连锁的基因编码。该复合体对 T 细胞受体 (TCR) 复合物的组装、胞内运输及膜表面表达具有关键作用。CD3 的表达呈现发育阶段性调控特点：胸腺细胞随发育阶段差异表达，所有成熟 T 细胞持续表达，而 B 细胞与 NK 细胞均不表达。

**种属反应:** 人 **偶联物:** FITC**宿主/亚型:** 小鼠 / IgG2a, **分类:** 单抗  
kappa**浓度** 5  $\mu$ L/Test **克隆** OKT3**储存条件:** 4°C, 避光, 切勿冷冻!**【应用】**

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	5 $\mu$ L (1 $\mu$ 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:

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。

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。

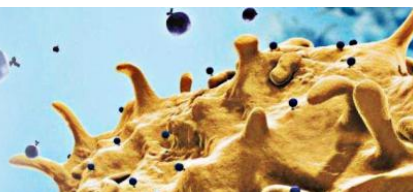
13. 室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

14. [可选]依照相应的细胞活性染料, 如 7-AAD



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



(#225693) 或 FVD 染料, 对细胞染色以区分死活细胞。

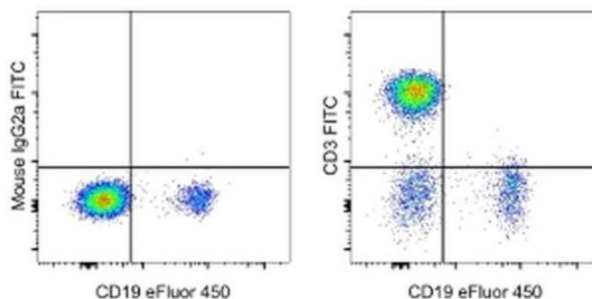
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100  $\mu$ L 流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100  $\mu$ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注: 细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ 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  $\mu$ L 染色液重悬细胞)。

17. 使用流式细胞仪检测分析样本。

#### 【检测数据】



用抗人 CD19 eFluor 450 和小鼠 IgG2a K 同种型对照 FITC (左) 或抗人 CD3 FITC (右) 染色正常人外周血细胞。