**FlowCyto™ Rat anti-Mouse CD45 -PE****货号:**

AM0245725 25 µg

AM0245710 100 µg

【产品介绍】

CD45 (白细胞共同抗原) 是一种受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP), 普遍表达于所有有核造血细胞, 约占淋巴细胞表面蛋白总量的 10%。该抗原在非造血细胞系 (包括正常与恶性病变的非造血组织) 中均不表达。CD45 糖蛋白通过调控 Src 家族激酶活性, 在淋巴细胞发育和抗原信号传导中起关键作用。该蛋白因可变剪接形成多种亚型, 这些亚型胞外结构域各异, 但具有相同的跨膜区和胞内结构域。

种属反应:	小鼠	偶联物:	PE
宿主/亚型:	大鼠 / IgG2b, kappa	分类:	单抗
浓度	0.2 mg/mL	克隆	30-F11
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)	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:
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 (10⁵-10⁸ 细胞)。
4. 将每种抗体按照推荐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。

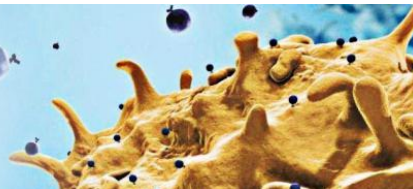
A. 荧光直标抗体检测

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 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。



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。

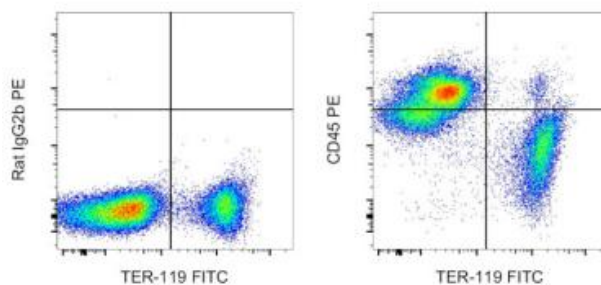
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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。

【检测数据】



对 C57BL/6 小鼠骨髓细胞进行染色：使用 TER-119 单克隆抗体 FITC 标记物分别与 0.015 μ g 大鼠 IgG2b kappa 同型对照 PE 抗体（左图）或 0.015 μ g CD45 单克隆抗体 PE 标记物（右图）进行联合标记。分析对象为总活细胞群体。