**FlowCyto™ Mouse anti-Human CD8a -Biotin****货号:**

AH0808325 25 µg

AH0808310 100 µg

【产品介绍】

CD8 (分化簇 8) 是一种免疫球蛋白家族的 I 型跨膜糖蛋白, 在 T 细胞分化、活化及信号转导中起关键作用。其以异源二聚体 (CD8 α β) 或同源二聚体 (CD8 α α) 形式存在: CD8 α β 主要表达于大部分胸腺细胞及成熟 α β TCR T 细胞亚群; 而 CD8 α α 则表达于 γ δ TCR T 细胞、肠道上皮内淋巴细胞 (IELs) 亚群以及树突状细胞。作为主要组织相容性复合体 I 类分子 (MHC-I) 的共受体, CD8 与 T 细胞受体 (TCR) 协同作用, 其中 CD8 α 链对 MHC-I 结合至关重要。

种属反应: 人 **偶联物:** Biotin

宿主/亚型: 小鼠 / IgG2a, **分类:** 单抗
kappa

浓度 0.5 mg/mL **克隆** OKT-8

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) | 0.06 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:

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°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。

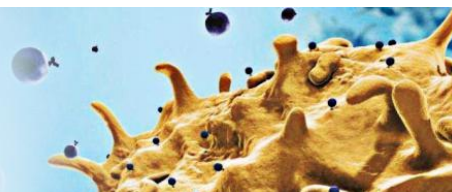
9. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 µL。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

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。

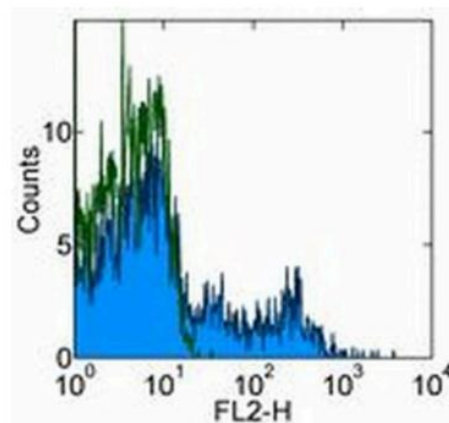
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



使用 0.06 μ g 小鼠 IgG2a kappa 同型对照生物素抗体（空心直方图）或 0.06 μ g 抗人 CD8a 生物素抗体（实心直方图）对正常人外周血细胞进行染色，后接链霉亲和素 PE 进行检测。分析对象为淋巴细胞门内的细胞群体。