**FlowCyto™ Mouse anti-Human CD25- PE****货号:**

AH0225325 25 Tests

AH0225310 100 Tests

**【产品介绍】**

CD25 (IL-2 受体  $\alpha$  链/IL2RA) 是一种在 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增殖过程中发挥作用的细胞因子。该细胞因子的受体 (IL2RA) 为异源三聚体蛋白复合物, 其  $\gamma$  链亦被白细胞介素 4 (IL4) 和白细胞介素 7 (IL7) 共用。IL2RA、IL2R $\beta$  链 (IL2RB) 与 IL2R $\gamma$  链 (IL2RG) 共同构成高亲和力 IL-2 受体。同源二聚化的 IL2RA 链会形成低亲和力受体, 而同源二聚化的 IL2RB 链则产生中等亲和力受体。成熟胸腺细胞中 IL2 的表达呈单等位基因模式, 这代表了一种控制单一基因精准表达的特殊调控机制。

**种属反应:** 人 **偶联物:** PE**宿主:** 小鼠/IgG1, **浓度:** 5  $\mu$ L/Test  
kappa**克隆:** BC96**保存:** 2-8℃, 切勿冷冻**【应用】**

实验应用	
流式分析 (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:

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℃ 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℃ 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℃ 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℃ 或冰上避光孵育 20-30 分钟。

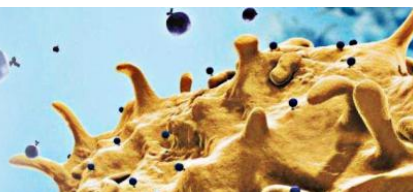
12. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200  $\mu$ L。

13. 室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



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。

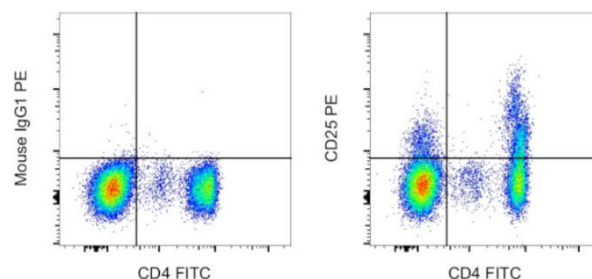
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100  $\mu$ L 流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100  $\mu$ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注: 细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ 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】



正常人外周血细胞分别使用 CD4 单克隆抗体 FITC 标记配合小鼠 IgG1 kappa 同型对照 PE 标记 (左侧), 以及 CD4 单克隆抗体 FITC 标记配合 CD25 单克隆抗体 PE 标记 (右侧) 进行染色。分析时选取淋巴细胞门内的细胞进行。