FlowCyto™ Mouse anti-Dog CD3e-FITC

货号：

AD0103125　　25 μg

AD0103110　　100 μg

【产品介绍】

CD3 复合体由 γ、δ、ε 和 ζ 亚基组成，对于 T 细胞受体（TCR）复合物的组装、运输和表面表达至关重要。这些亚基是免疫球蛋白超家族中结构相关的成员，由人类第 11 号染色体上紧密连锁的基因编码。CD3 以发育调控的方式在胸腺细胞中表达，并存在于所有成熟 T 细胞表面，但不在 B 细胞或 NK 细胞上表达。CD3 亚基在将抗原识别信号转导至 T 细胞胞质的过程中起关键作用，其胞质尾部含有基于双酪氨酸的基序，可与胞质信号转导分子结合，通过 TCR 介导 T 细胞活化。

种属反应：	犬	**偶联物：**	FITC
宿主/亚型：	小鼠 / IgG1	**分类：**	单抗
浓度	0.1 mg/mL	**克隆**	CA17.2A12

储存条件： 短期置于 4℃，长期置于-20℃保存，避光。

【应用】

实验应用	建议稀释比
流式细胞分析 (Flow)	Neat-1:10

【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。

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℃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 μL 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μL IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注: 细胞可以在 2-8℃避光保存 12 小时，固定后的细胞可以在 2-8℃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 μL 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】

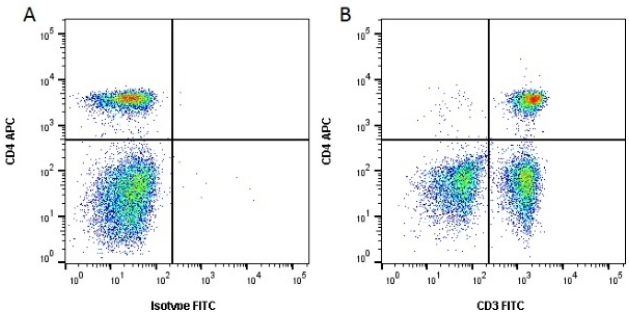

图 A：APC 标记的大鼠抗犬 CD4 抗体与 FITC 标记的小鼠 IgG1 同型对照抗体。图 B：APC 标记的大鼠抗犬 CD4 抗体与 FITC 标记的小鼠抗犬 CD3 抗体。所有实验均在裂解红细胞的犬血样本中进行，在 10% 犬血清存在条件下以淋巴细胞群设门，使用 ZE5 细胞分析仪采集数据。