

FlowCyto™ Rat-anti Mouse/Rat Foxp3- PE-Cyanine5

货号:

AK0903125 25 ug

AK0903110 100 ug

【产品介绍】

FOXP3 (叉头框蛋白 3) 属于叉头/翼状螺旋转录调节因子家族成员, 在哺乳动物中高度保守, 对维持正常免疫稳态至关重要。该蛋白全长 381 个氨基酸, 在 CD25⁺CD4 阳性调节性 T 细胞中稳定且高水平持续表达, 在 CD4 阳性/CD25 阴性细胞中呈低水平表达, 而在 CD4 阴性/CD8 阳性 T 细胞中则完全不表达。FOXP3 可能是调节性 T 细胞的关键调控基因和更特异的标志物。小鼠体内编码 FOXP3 蛋白的基因缺陷会导致"scurfy"表型。

种属反应: 牛、犬、猫、小鼠、猪、大鼠
偶联物: PE-Cyanine5

宿主/亚型: 大鼠 / IgG2a, kappa
分类: 单抗

浓度: 0.2 mg/mL
克隆: FJK-16s

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)	1 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。

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°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。

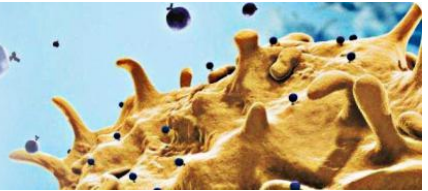
B. 纯化或生物素化抗体检测

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 μ 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 (#225693) 或 FVD 染料, 对细胞染色以区分死活细胞。

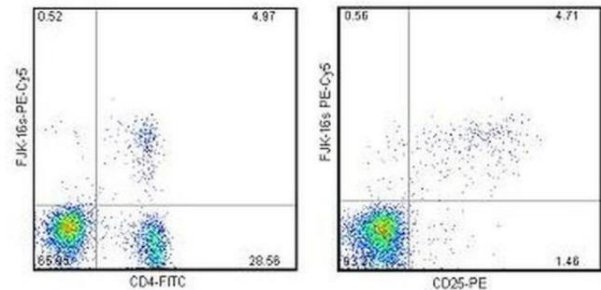
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注: 细胞可以在 2-8°C避光保存 12 小时, 固定后的细胞可以在 2-8°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 Anti-Mouse CD4 FITC 和 Anti-Mouse CD25 PE 对 BALB/c 小鼠脾细胞进行表面染色, 随后采用 Foxp3/转录因子缓冲液试剂盒进行 Anti-Mouse/Rat Foxp3 PE-Cyanine5 或 Rat IgG2a 同型对照 PE-Cyanine5 染色。左图散点图显示 CD4 与 FJK-16s 的共染情况, 右图则展示 CD25 与 FJK-16s 的共染结果。分析所用细胞均取自淋巴细胞设门区域。