

Mouse Anti-Human CD28- Functional Grade

货号:

AH1028125	25 µg
AH1028105	50 µg
AH1028110	100 µg
AH1028150	500 µg

【产品介绍】

CD28 抗原是一种分子量为 44 kDa、由二硫键连接的同源二聚体 T 细胞特异性表面糖蛋白。作为免疫球蛋白超家族的细胞黏附分子,CD28 持续表达于大多数外周血 T 淋巴细胞表面。更重要的是,CD28 是关键 T 细胞共刺激受体,通过与抗原呈递细胞表达的 CD80 和 CD86 结合,为细胞提供重要的第二激活信号。除共刺激功能外,CD28 还能阻止 T 细胞进入无反应状态或发生提前凋亡。

种属反应:	人	偶联物:	Functional Grade
宿主/亚型:	小鼠 / IgG1, kappa	分类:	单抗
浓度	1 mg/mL	克隆	CD28.2
储存条件:	4°C		

【应用】

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	1 µg/test
功能检测 (FN)	Assay-Dependent

【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。

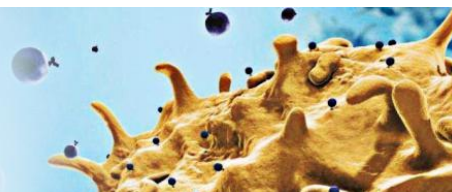
注: 纯化裸抗或生物素标记的一抗直接至第 8 步。

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 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。

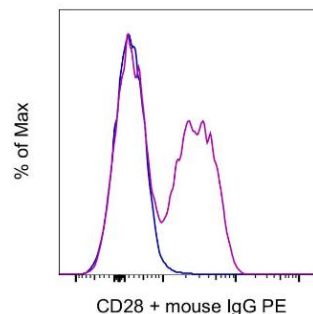
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注：细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ 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】



正常人外周血细胞用 0.5 μ g 小鼠 IgG1 kappa 同型对照（蓝色直方图）或 0.5 μ g CD28 单克隆抗体，功能抗体（紫色直方图），然后用 IgG 多克隆抗体，PE 染色。淋巴细胞门内的细胞用于分析。