

Human Fc Receptor Binding Inhibitor Polyclonal Antibody

货号:

AH1016025 25 Tests

AH1016010 100 Tests

【产品介绍】

目前已鉴定出四种不同类型的 Fc γ 受体: Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32) 和 Fc γ RIII (CD16)。这些受体在多种细胞谱系中呈现差异表达,尤其在髓系细胞、粒细胞和 B 细胞中高表达。当宿主免疫球蛋白与其结合后, Fc γ 受体可介导内吞作用、吞噬作用及抗原呈递等生物学功能。小鼠单克隆抗体与人类 Fc γ 受体的结合程度取决于该抗体的同种型。此外,即使是相同同种型的单克隆抗体,其与人类 Fc γ 受体的结合特性也存在差异。

种属反应: 人 偶联物: Unconjugated

分类: 多抗 浓度: 1 mg/mL

储存条件: 4°C

【应用】

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	20 μ L/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 μ L 细胞标本加入 20 μ L 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 μ L 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 μ L(例如, 50 μ L 细胞加入 50 μ 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。

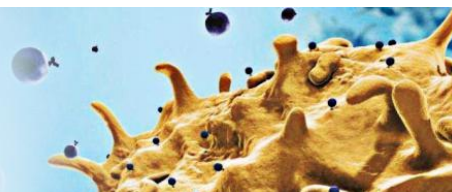
A. 荧光直标抗体检测

5. 2-8°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 μ 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°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 μ L。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。
10. 重复第 9 步。
11. 使用 100 μ L 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。



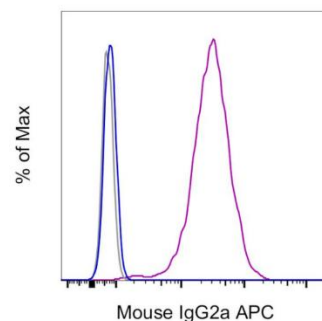
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本,可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞,加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



Fc 受体介导的非特异性结合被 Fc 受体结合抑制剂阻断。THP-1 细胞不处理(紫色直方图)或用 Fc 受体结合抑制剂抗体(蓝色直方图)在 4 $^{\circ}$ C 下处理 15 分钟。然后用 0.5 μ g 小鼠 IgG2a kappa 同型对照,APC 对细胞进行染色。灰色直方图表示未染色细胞的自身荧光。活细胞用固定活性染料 780 染色进行分析。