

## FlowCyto™ Mouse anti-Human FOXP3- APC

货号:

AK0373225 25 Tests

AK0373210 100 Tests

### 【产品介绍】

FOXP3 (叉头框蛋白 P3) 作为叉头/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具有关键作用。该蛋白由 381 个氨基酸构成, 其表达具有细胞特异性: 在 CD25+CD4+ 调节性 T 细胞中呈稳定高表达, 在 CD4+CD25- 细胞中为低表达, 而在 CD4-CD8+T 细胞中完全缺失。FOXP3 不仅是调节性 T 细胞的特异性标志物, 更被认为是该细胞谱系的主调控基因。

种属反应: 人, 非人灵长类动物, 恒河猴  
偶联物: APC

宿主/亚型: 小鼠 / IgG1, kappa  
分类: 单抗

浓度 5 μL/Test 克隆 236A/E7

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)	5 μL (0.125 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。

3. 每管或每孔加入 50 μL 细胞悬液 (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> 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。

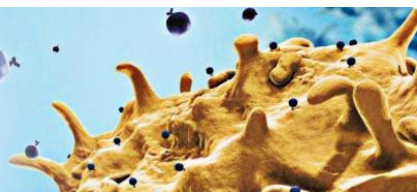
9. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 μL。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

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 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。

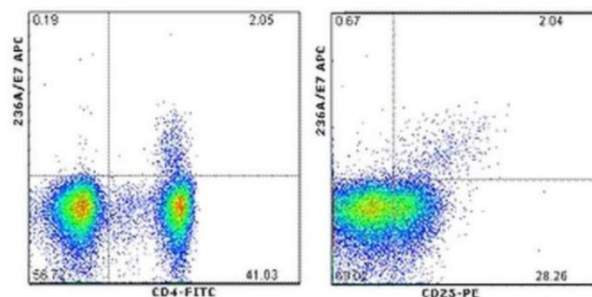
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100  $\mu$ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100  $\mu$ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



用抗人 CD4 FITC (左) 和抗人 CD25 PE (右) 对正常人外周血细胞进行染色，然后使用 Foxp3/转录因子染色缓冲液对正常人外周血细胞进行染色。