

FlowCyto™ Mouse anti-Human CD8a- Alexa Fluor 700

货号:

AH1508125 25 Tests

AH1508110 100 Tests

【产品介绍】

CD8, 亦称分化簇 8, 是免疫球蛋白家族的一种 I 型跨膜糖蛋白, 在 T 细胞分化、激活及信号转导中起关键作用。其表达形式包括异源二聚体 (CD8 $\alpha\beta$) 和同源二聚体 (CD8 $\alpha\alpha$)。CD8 $\alpha\beta$ 主要存在于大部分胸腺细胞及部分成熟 $\alpha\beta$ TCR T 细胞亚群, 而 CD8 $\alpha\alpha$ 则表达于 $\gamma\delta$ TCR T 细胞、肠道上皮内淋巴细胞亚群及树突状细胞。

种属反应: 人 偶联物: Alexa Fluor 700

宿主/亚型: 小鼠 / IgG1, 分类: 单抗
kappa

浓度 5 μ L/Test 克隆 RPA-T8

储存条件: 4 $^{\circ}$ C, 避光, 切勿冷冻!

【应用】

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	5 μ L (0.125 μ g)/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 $^{\circ}$ 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 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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。

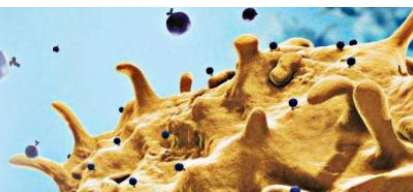
13. 室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

14. [可选]依照相应的细胞活性染料, 如 7-AAD



Precision BioMedicals Co.,Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



(#225693) 或 FVD 染料, 对细胞染色以区分死活细胞。

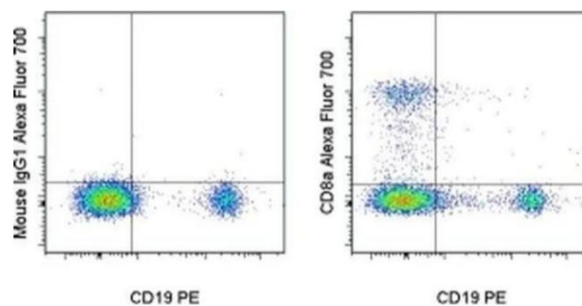
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



使用抗人 CD19 PE 抗体及小鼠 IgG1 K 同型对照 Alexa Fluor 700 抗体 (左图) 或抗人 CD8a Alexa FI 700 抗体 (右图) 对正常人外周血细胞进行染色。分析采用淋巴细胞门内的细胞。