Summus™FITC anti-human CD73 Antibody

产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
SA01201	Summus™FITC anti-human CD73 Antibody	4℃	1 年

产品简介：

来源	Isotype	用途	交叉反应性	标记	Ex/Em
Mouse	IgG1, κ	FC	Human	FITC	498/517nm

注：推荐用于流式细胞仪检测每次用量为 2.5μl，对应 2.5-5×10^5 细胞或 50μl 外周血，实际使用时可以根据样品的实际情况适当调整抗体用量。

1. 萨默斯的 Summus™系列抗体，也称 Summus™流式抗体(Antibody for flow cytometry,FC antibody)，是经过充分验证适用于流式细胞仪(Flow Cytometry,FC)的高品质抗体，Summus™系列流式抗体提供很多常见抗体，并提供多种荧光标记，便于选择合适的抗体和适当的荧光标记。
2. Summus™系列流式抗体对于细胞的标记效果好，染色背景低，细胞分群更清晰。
3. Summus™系列流式抗体特异性高，染色和细胞分群结果更为准确。
4. Summus™系列流式抗体一致性好，批次间差异更小，结果重复性好。
5. 抗体详细信息如下：

About this Antibody	
Name	Summus™FITC anti-human CD73 Antibody
Category	Mouse Monoclonal Antibody(mAb);Primary antibody;FC Antibody
Isotype	IgG1, κ
Clone number	BYAD2
Purification method	Protein A affinity purification
About the Immunogen	
Gene ID	4907
Swiss Prot	P21589
Synonyms	NT;eN;NT5;NTE;eNT;CD73;E5NT; CALJA
Background	The protein encoded by this gene is a plasma membrane protein that catalyzes the conversion of extracellular nucleotides to membrane-permeable nucleosides. The encoded protein is used as a determinant of lymphocyte differentiation. Defects in this gene can lead to the calcification of joints and arteries. Two transcript variants encoding different isoforms have been found for this gene. [provided by RefSeq, Mar 2011]

保存条件：

4℃保存，一年有效。抗体须避光保存。流式检测细胞染色缓冲液-20℃可以保存更长时间。

使用说明(仅供参考)：

如下实验步骤仅供参考。用于特定样品分析的时候，可尝试使用实验室习惯方法或根据实验目的进行实验条件

的适当优化。

1.实验方案设计。根据实验目的，根据拟使用的流式细胞仪的光学性能，选择合适的荧光标记抗体和染色液，确定多荧光染色方案。为了确保实验结果的可信度和准确性，建议适当设置如下实验分组。

Experiment design	Purpose
阴性/空白对照	调节仪器电压
单染/单阳性对照	调节补偿
抗体同型对照	消除背景染色干扰
FMO(荧光扣除)对照	确定设门的准确性
生物学对照	与实验组进行对比
实验组	获取实验结果

2.单细胞悬液样品的准备。采集组织或细胞样品，使用适当方法制备成单细胞悬液，并使用 Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞，细胞密度宜为 5-10×10^6细胞/ml，体积为 50μl。

注 1：须根据样品的特性选择合适的方法将样品制备为单细胞悬液。例如，脾脏、淋巴结、胸腺、骨髓、肿瘤等实体组织样品和贴壁细胞需要适当消化处理成单细胞混悬液；外周血需要去除红细胞，推荐使用红细胞裂解液。

注 2：如果使用胰酶等蛋白酶消化贴壁细胞样品，须充分洗涤以去除残留的消化酶，以免干扰后续的抗体与细胞表面抗原的结合。

注 3：通常可以在 350×g 离心 5 分钟以沉淀细胞。但对于不同的细胞，也可以酌情采用 150-350×g 离心 1-10 分钟。

a.外周血单核细胞(PBMC)的样品制备：

(a)采集的血液采用抗凝管(EDTA、肝素抗凝管均可)分装，用不含钙镁离子的 PBS 或生理盐水对样品进行 1:1 稀释，推荐选择萨默斯生产的 PBS 或生理盐水(0.9%NaCl,无菌)。

(b)根据需要选择对应的外周血分离试剂盒，并按照对应的操作说明进行 PBMC 的分离。推荐使用萨默斯人外周血淋巴细胞分离液、大鼠外周血淋巴细胞分离试剂盒、小鼠外周血淋巴细胞分离试剂盒、兔外周血淋巴细胞分离试剂盒。

(c)提取 PBMC 后，用适量 Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞，250×g 离心 10 分钟，弃上清。再次用适量 Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞后，对细胞进行计数及活性检测。随后，根据计数的结果调整细胞浓度至 5-10×10^6个细胞/ml，取 50μl(约 2.5-5×10^5个细胞)置于 4℃或冰浴备用。

注：EDTA 抗凝剂可使粒细胞脱粒，过量肝素钠将导致白细胞和血小板聚集,如果是细胞因子或凋亡检测，须使用肝素抗凝。

b.贴壁细胞的样品制备：

(a)用 EDTA 细胞解离液将细胞从培养器皿中解离下来。推荐使用 Summus™0.02%EDTA 细胞解离液(Versene 溶液)。也可以酌情使用胰酶细胞消化液，但胰酶消化可能会影响后续细胞表面抗原的检测。EDTA 细胞解离液处理后，如有必要可以使用细胞铲或细胞刮促进细胞解离。推荐使用 Summus™21cm 细胞铲(独立纸塑包装,无菌)、Summus™23cm 细胞刮(独立纸塑包装,无菌)或 Summus™29cm 细胞刮(独立纸塑包装,无菌)。

(b)将细胞转移至离心管中，并使用移液器轻柔吹打数次，以充分分散细胞团块，然后进行细胞计数和活性检测。

(c)根据具体的细胞类型选择合适的转速离心获得细胞沉淀，然后用适量体积的 Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞，调整细胞浓度为 5-10×10^6个细胞/ml，取 50μl(约 2.5-5×10^5个细胞)置于 4℃或冰浴备用。

c.淋巴组织的样品制备：

(a)向细胞培养皿中倒入约 20ml 预冷的 PBS 缓冲液，将一个 70μm 孔径的细胞过滤器(或 200 目滤网)置于培养皿中，润湿底部。推荐使用萨默斯 Summus™细胞过滤器(70μm 孔径,底网,独立包装,无菌)或 Summus™细胞过滤器(70μm 孔径,独立纸塑包装,无菌)。

(b)采集组织(脾、胸腺或淋巴结)将其放入细胞过滤器中，使用 5ml 注射器柱塞端压向细胞过滤器轻轻研磨组织，直至组织中细胞完全分离，只剩白色膜状物残留在细胞过滤器上。推荐选购一次性实验用注射器(无菌独立包装,带针,5ml)。

(c)将 70μm 细胞过滤器放在 50ml 离心管上方，使用一次性移液器，将研磨后的细胞悬液转移到细胞过滤器中。加入 5-10ml 预冷的 PBS 冲洗筛网，如有未研磨完全的组织团块，可继续使用 5ml 注射器柱塞端进行研磨，边研磨边加入适量预冷的 PBS 冲洗细胞过滤器。收集所有细胞滤液后，4℃，350×g 离心 5 分钟，弃上清。

(d)加入适量 Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞，随后 4℃，350×g 离心 5 分钟，弃上清。

(e)(选做)裂解红细胞：加入 6-8ml 红细胞裂解液，充分重悬后室温孵育 3-5 分钟进行红细胞裂解。然后加入等体积的 Summus™流式检测细胞染色缓冲液终止裂解，350×g 离心 5 分钟，弃上清。推荐使用红细胞裂解液。

注：如果红细胞的存在不影响后续实验，可省略本步骤。

(f)加入 2ml Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞，10 倍稀释后进行细胞计数和活性检测。随后根据计数的结果调整细胞浓度至 5-10×10^6个细胞/ml，取 50μl(约 2.5-5×10^5个细胞)置于 4℃或冰浴备用。

注：可以酌情选购 Summus™小鼠脾脏单细胞悬液制备试剂盒以用于制备相应的单细胞悬液。

3.(选做)Fc 受体封闭。巨噬细胞、单核细胞、粒细胞、B 细胞、树突状细胞等细胞表面表达 Fc 受体，会与抗体的 Fc 段结合，从而影响预期的实验结果。为了减少这种非预期的染色，推荐使用 Fc 受体封闭剂。通常人的巨噬细胞、单核细胞等表达 Fc 受体水平较高，会与兔 IgG 发生较明显的交叉反应，此时更宜进行 Fc 受体封闭。

a.对于人样品，推荐使用 Summus™FcR 封闭剂(Human)；对于小鼠样品，推荐使用萨默斯的 Summus™FcR 封闭剂。

b.取 2.5-5×10^5个细胞(50μl 细胞悬液)至 15ml 离心管或流式细胞管中，体积不足 50μl 的用 Summus™流式检测细胞染色缓冲液补足至 50μl。按照对应的说明书添加适量的 Fc 封闭剂，冰上孵育 5-10 分钟。完成后无需洗涤，立即加入拟检测的目标蛋白的抗体进行后续的染色。

注：宜将吸头插入至离心管或流式细胞管近底部后，再加入细胞悬液，尽量避免从管侧壁加样，以减少细胞样品可能的损失。

4.细胞表面抗原的流式抗体染色。

a.每管加入 2.5μl 本产品，用移液器轻轻吹打混匀，4℃或冰浴避光孵育 15-30 分钟。

注 1：对于 25-50 万个细胞，推荐使用 2.5μl 本产品。其它细胞数量，可以适当增减用量。对于特定的样品，可以根据实验结果对于用量进行一定的优化。

注 2：对于特定的样品，如果染色偏弱，也可以酌情把细胞与抗体的孵育时间延长至 60 分钟。

b.每管加入 0.5ml Summus™流式检测细胞染色缓冲液并混匀，350×g 离心 5 分钟，弃上清。

c.重复一次上述步骤 b 一次。

d.(选做)将细胞重悬于 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液，酌情加入 7-AAD 或碘化丙啶(PI)染色液用于染色死细胞，以排除死细胞对实验结果的干扰。推荐选购萨默斯的 Summus™7-AAD 染色液(50X)或 Summus™PI 染色液(50X)。

注 1：在样品制备的过程中，特别是组织样品，常常有较多死细胞，会影响流式分析结果。此时如果使用 7-AAD 或 PI 染色，可以区分死细胞和活细胞，能有效去除死细胞对实验结果的干扰。但 7-AAD 等核酸染料通常与细胞固定及胞内染色步骤不兼容，如果实验涉及到固定及胞内染色，则需使用可兼容固定步骤的胺反应性染料，并在表面染色开始前进行死细胞染色。

注 2：如果使用的一抗是非荧光标记的，洗涤步骤结束后，可以重悬至 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液中，并加入适量的荧光标记二抗，4℃或冰浴避光孵育 15-30 分钟。随后每管加入 0.5ml Summus™流式检测细胞染色缓冲液并混匀，350×g 离心 5 分钟，弃上清。随后再重复洗涤步骤 1 次。

注 3：如果后续无细胞内抗原染色，本步骤结束后即可使用流式细胞仪进行流式细胞分选(Fluorescence activated cell sorting,FACS)或流式细胞分析。

5.细胞内抗原的流式抗体染色。如果进行细胞内抗原的流式细胞抗体染色，请优先进行细胞表面抗原的流式抗体染色，这样可以避免有些细胞表面抗原因为固定而无法被流式抗体所识别。

a.固定。上述细胞悬液 350×g 离心 5 分钟后，弃上清。加入 500μl Summus™流式检测细胞固定液或 4%多聚甲醛固定液，室温避光孵育 10-20 分钟以固定细胞。350×g 离心 5 分钟，弃上清。

注 1：在进行细胞内抗原染色前须固定细胞，以确保可溶性抗原或半衰期短的抗原的稳定性。

注 2：进行细胞内抗原的流式抗体染色时需充分考虑靶点抗原在细胞内的位置，从而选择合适的固定方式。如细胞骨架抗原、病毒抗原和某些酶抗原通常在用高浓度丙酮、酒精或甲醛固定时获得最佳效果。但一些有机溶剂处理时可能会导致荧光基团的淬灭，例如使用甲醇处理会导致 PE 或 APC 的荧光无法被清晰观察到。

b.通透与洗涤。加入 2ml Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(TritonX-100)或 Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin)充分重悬细胞，在室温下避光孵育 10-15 分钟以通透细胞。350×g 离心 5 分钟，弃上清。重复洗涤 2-3 次。

注 1：可根据靶点抗原在细胞内的具体位置，选择适当的不同强度的通透与洗涤试剂。

注 2：萨默斯同时提供 Summus™流式检测细胞固定与通透缓冲液，仅需一步即可同时实现固定及通透步骤，如需获取可点击相关产品或查询网站。

c.重悬。每管加入 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞。

d.染色。可以参考常规的免疫荧光染色步骤进行。加入荧光标记的适当抗体并适当混匀，室温避光孵育 15-30 分钟(也可以酌情调整为室温避光孵育 30-60 分钟)。每管加入 2ml Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(TritonX-100)或 Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin)并混匀，350×g 离心 5 分钟，弃上清。随后再重复洗涤一次。最终用 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞。

注：如果使用的一抗是非荧光标记的，洗涤步骤结束后，可以用 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬，并加入适量的荧光标记二抗，4℃或冰浴避光孵育 15-30 分钟(也可以酌情调整为室温避光孵育 30-60 分钟)。随后每管加入 2ml Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(TritonX-100)或 Summus™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin)并混匀，350×g 离心 5 分钟，弃上清。随后再重复洗涤步骤 1 次。最终用 100μl Summus™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞。

6.流式细胞仪检测和分析。

上述各种染色请注意尽量设置好各种阴性和阳性对照。如有必要，可以设置相同标记的同型抗体阴性对照。根据空白对照和单阳性对照，适当调整光电倍增管电压(PTM voltage)和补偿。根据未染色的空白对照、Isotype control、阳性对照等进行象限分析(Quadrant analysis)。同时根据前向散射和侧向散射的检测结果，去除散射明显偏小的细胞碎片和散射明显偏大的双细胞和多细胞，圈选散射适中的单细胞进行后续的分析。如果使用了 7-AAD 或 PI 进行染色，可以根据需要筛选出染色阴性的活细胞进行后续分析。具体的实验操作请自行参考适当的特定流式细胞仪的使用说明进行。

7.本抗体用于流式细胞分析的代表性图片请参考图 1。

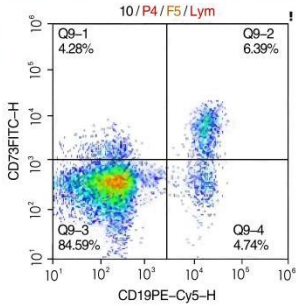


图 1.萨默斯 FITC anti-human CD73 检测效果图。Human peripheral blood lymphocytes stained with FITC anti-human CD73 (clone BYAD2) and PE-Cy5 anti-human CD19.

注意事项：

1.流式抗体通常不宜回收再使用。

2.相关步骤离心时，4℃可更好的维持细胞完整性；同时根据细胞类型，可对离心力进行一定的优化。

3.如果需要同时进行细胞表面和细胞内抗原的流式检测，须先进行细胞表面抗原的染色，这样可以避免有些细胞表面抗原因为固定 而无法被流式抗体所识别。

4.如需更多的流式检测细胞染色缓冲液，可以另行单独采购我司的流式检测细胞染色缓冲液。

5.本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 实验结果受多种因素影响，相关处理仅限于产品本身，不涉及其他赔偿。

免责声明:本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司
电话:13564444959
官网:www.followme-shop.com
地址:北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼

公众号　　客服