

One Step Staining Mouse Treg Flow Kit

細胞内染色プロトコール

Catalog # / Size: 136801 / 25 tests (試薬の保存期限は3か月です。)

試薬構成

1. Alexa Fluor 488 anti-mouse FOXP3/CD25 PE/CD4 PerCP antibody cocktail, 25 tests
2. Alexa Fluor 488 Rat IgG2b, κ isotype control/CD25 PE/CD4 PerCP antibody cocktail, 25 tests
3. FOXP3 Fix/Perm Buffer Set, 100 tests Cat. No. 421403

キットに含まれない必要試薬

1. Cell Staining Buffer (Cat. No. 420201)

試薬準備

1. ご使用になる直前に用事調製して下さい。FOPX3 Fix/Perm buffer (4X) を1に対してPBSを3の割合で混和し1倍濃度のFOPX3 Fix/Perm bufferを作成します。
2. 同様にFOXP3 Perm buffer (10X)を1に対してPBSを9の割合で混和し1倍濃度のFOXP3 Perm bufferを作成します。
Note: FOXP3 Perm buffer は2~8°Cで保管すると沈殿物を生じる場合がありますが、性能には影響ありません。1倍濃度にした際に沈殿物が目立つ場合はフィルトレーションしてください。
注意: FOXP3 Fix/Perm bufferはパラフォルムアルデヒドを含んでいます。毒性、変異原性があるため、直接触れないようにご注意ください。

固定

3. 解析対象の細胞をBioLegend cell staining buffer(Cat.no.420201)で 1×10^7 cells / mLにして下さい。
4. FCM用チューブに細胞懸濁液を100μLずつ加えてください。
5. 1倍濃度のBioLegend FOXP3 Fix/Perm solution 1mLを各チューブに加えボルテックスし、室温で20分間置きます。

洗浄

6. 250 g、5分間室温で遠心した後に上清を除きます。
7. 2mLのCell Staining Buffer を加え再懸濁し、250gで5分間遠心し上清を除きます。

細胞膜透過処理

8. 1ml の1倍濃度 BioLegend FOXP3 Perm bufferを加え再懸濁し、250gで5分間遠心し上清を除きます。
9. 1ml の1倍濃度 BioLegend FOXP3 Perm bufferで再懸濁し、室温暗所で15分間置きます。

細胞内染色

10. 250 g、5分間遠心し、上清を除きます。
11. 細胞ペレットをおだやかにボルテックスで懸濁し、
Alexa Fluor® 488 anti-mouse FOXP3/CD25 PE/CD4 PerCP
Alexa Fluor® 488 rat IgG2b, κ isotype control/CD25 PE/CD4 PerCP抗体をそれぞれ20μL加え、室温、暗所で30分間インキュベーションします。

洗浄

12. 2mlのCell Staining Buffer を加え、250gで5分間遠心し上清を除きます。
13. もう一度繰り返し、0.5mlのCell Staining Buffer に再懸濁します。

FCM

14. 氷冷中に置き、FCM解析します。

Related Information:

1. Roncador, G., et al., 2005 *Eur. J. Immunol.* 35:1681.

Reagent List:

1. Cell Staining Buffer (Cat. No. 420201)

トミーデジタルバイオロジー株式会社
カスタマーサポート
〒110-0008東京都台東区池之端2-9-1
TEL : 03-5834-0843 Fax : 03-5815-0813
mail : Biolegend@digital-biology.co.jp