



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
订货 e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

BeyoFC™ FITC anti-mouse CD86 Antibody

产品编号	产品名称	包装
AC1150-125μl	BeyoFC™ FITC anti-mouse CD86 Antibody	50次
AC1150-500μl	BeyoFC™ FITC anti-mouse CD86 Antibody	200次

产品简介:

来源	Isotype	用途	交叉反应性	标记	Ex/Em
Rat	IgG2a	FC	Mouse	FITC	498/517nm

注: 推荐用于流式细胞仪检测每次用量为2.5μl, 对应 $2.5-5 \times 10^5$ 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。

- 碧云天的BeyoFC™系列抗体, 也称BeyoFC™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, BeyoFC™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。
- BeyoFC™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。
- BeyoFC™系列流式抗体特异性高, 染色和细胞分群结果更为准确。
- BeyoFC™系列流式抗体一致性好, 批次间差异更小, 结果重复性好。
- 抗体详细信息如下:

About this Antibody	
Name	BeyoFC™ AC1150 Antibody
Category	Rat Monoclonal Antibody (mAb); Primary antibody; FC Antibody
Isotype	IgG2a
Clone number	BYGL1
Purification method	Protein A affinity purification
About the Immunogen	
Gene ID	12524
Swiss Prot	P42082
Synonyms	B7; B70; MB7; B7-2; B7.2; CLS1; Ly58; ETC-1; Ly-58; MB7-2; Cd28l2; TS/A-2
Background	Predicted to enable signaling receptor binding activity. Involved in several processes, including CD40 signaling pathway; activation of phospholipase C activity; and positive regulation of macromolecule metabolic process. Acts upstream of or within several processes, including cellular response to lipopolysaccharide; defense response to virus; and positive regulation of T cell proliferation. Located in external side of plasma membrane and intracellular membrane-bounded organelle. Is expressed in central nervous system and retina. Used to study Guillain-Barre syndrome. Human ortholog(s) of this gene implicated in several diseases, including Henoch-Schoenlein purpura; autoimmune disease (multiple); chronic lymphocytic leukemia; chronic obstructive pulmonary disease; and systemic scleroderma. Orthologous to human CD86 (CD86 molecule). [provided by Alliance of Genome Resources, Apr 2022]

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
AC1150-125μl	BeyoFC™ FITC anti-mouse CD86 Antibody	125μl
AFC060	BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液	60ml
—	说明书	1份

孔径, 独立纸塑包装, 无菌) (FSTR070)。

- (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) (FS805)。
- (c) 将70 μ m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 $^{\circ}$ C, 350 $\times$ g离心5分钟, 弃上清。

- (d) 加入适量BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液重悬细胞, 随后4 $^{\circ}$ C, 350 $\times$ 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BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液终止裂解, 350 $\times$ g离心5分钟, 弃上清。推荐使用红细胞裂解液(C3702)。

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 BeyoFC™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 $\times$ 10⁶个细胞/ml, 取50 μ l (约2.5-5 $\times$ 10⁵个细胞)置于4 $^{\circ}$ C或冰浴备用。

注: 可以酌情选购BeyoFC™小鼠脾脏单细胞悬液制备试剂盒(C1758)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, 从而预期实验结果。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BeyoFC™ FcR封闭剂(Human) (C1752);对于小鼠样品, 推荐使用碧云天的BeyoFC™ FcR封闭剂(Anti-mouse CD16/CD32) (C1755)。

- b. 取2.5-5 $\times$ 10⁵个细胞(50 μ l细胞悬液)至15ml离心管或流式细胞管(FFC005)中, 体积不足50 μ l的用BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液补足至50 μ l。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2.5 μ l本产品, 用移液器轻轻吹打混匀, 4 $^{\circ}$ C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2.5 μ l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 BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液并混匀, 350 $\times$ 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100 μ l BeyoFC™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。推荐选购碧云天的BeyoFC™ 7-AAD染色液(50X) (C1737)或BeyoFC™ PI染色液(50X) (C1734)。

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100 μ l BeyoFC™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 $^{\circ}$ C或冰浴避光孵育15-30分钟。随后每管加入0.5ml BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液并混匀, 350 $\times$ 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 $\times$ g离心5分钟后, 弃上清。加入500 μ l BeyoFC™流式检测细胞固定液(C1713)或4%多聚甲醛固定液(P0099), 室温避光孵育10-20分钟以固定细胞。350 $\times$ 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 BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Triton X-100) (C1715)或BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin) (C1717)充分重悬细胞, 在室温下避光孵育10-15分钟以通透细胞。350 $\times$ 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: 碧云天同时提供BeyoFC™流式检测细胞固定与通透缓冲液(C1719), 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100 μ l BeyoFC™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 BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Triton X-100) (C1715)或BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin) (C1717)并混匀, 350 $\times$ g离心5分钟, 弃上清。随后再重复洗涤一次。最终用100 μ l BeyoFC™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 BeyoFC™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 BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Triton X-100) (C1715)或BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin) (C1717)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 BeyoFC™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。

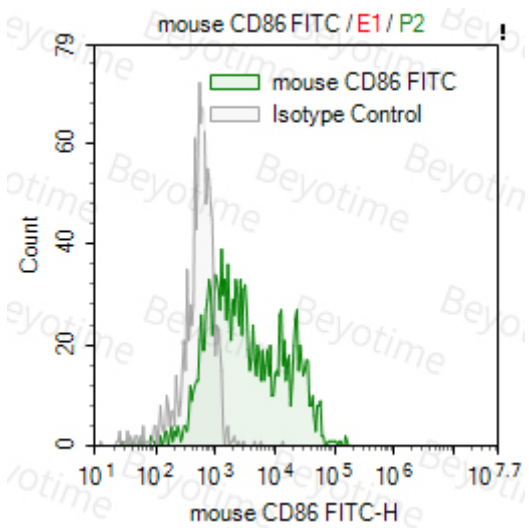


图1. 碧云天FITC anti-mouse CD86 (AC1150)检测效果图。LPS-stimulated (3 days) C57BL/6J splenocytes stained with FITC anti-mouse CD86 (clone BYGL1) (colored histogram) or FITC rat IgG2a (gray histogram).

参考文献：

1. Maciorowski Z, Chattopadhyay PK, Jain P. Curr Protoc Immunol. 2017;117:5.4.1-5.4.38.
2. Cossarizza A et al. (2019). Eur J Immunol 49, 1,457–1,973.
3. Ferrer-Font L et al. (2020). Curr Protoc Cytom, 92, 1, e70.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
FFC005-1bag	BeyoGold™流式细胞管(5ml, 透明, 无菌)	25个/袋
FFC005-20bags	BeyoGold™流式细胞管(5ml, 透明, 无菌)	25个/袋, 20袋/箱
C0025-200ml	人外周血淋巴细胞分离液	200ml
C0027S	大鼠外周血淋巴细胞分离试剂盒	200ml
C0029S	小鼠外周血淋巴细胞分离试剂盒	200ml
C0031S	兔外周血淋巴细胞分离试剂盒	200ml
C0071	BeyoClick™ EdU-488细胞增殖检测试剂盒	50-500次/200-2000次
C0075	BeyoClick™ EdU-555细胞增殖检测试剂盒	50-500次/200-2000次
C0078	BeyoClick™ EdU-594细胞增殖检测试剂盒	50-500次/200-2000次
C0081	BeyoClick™ EdU-647细胞增殖检测试剂盒	50-500次/200-2000次
C1052	细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒	50次
C1053	7-AAD细胞活力检测试剂盒	200次/1000次
C1055	一步法细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒	50次/200次
C1062	Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次/100次
C1065	Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次/100次
C1067	Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次
C1069	Annexin V-mCherry细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次/100次
C1070	Annexin V-mCherry/SYTOX Green细胞凋亡检测试剂盒	20次/50次
C1711	BeyoFC™流式检测细胞染色缓冲液	100ml/500ml

C1713	BeyoFC™流式检测细胞固定液	100ml/500ml
C1715	BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Triton X-100)	100ml/500ml
C1717	BeyoFC™流式检测细胞通透与洗涤液(Saponin)	100ml/500ml
C1719	BeyoFC™流式检测细胞固定与通透缓冲液	100ml
C1731	BeyoFC™ PI/RNase即用型染色液	100ml
C1734	BeyoFC™ PI染色液(50X)	0.5ml/2ml
C1737	BeyoFC™ 7-AAD染色液(50X)	1ml/5ml
C1740	BeyoFC™ Foxp3/转录因子破膜试剂盒	150次
C1743	BeyoFC™固定与通透试剂盒	200次
C1746	BeyoFC™ Plus固定与通透试剂盒(含阻断剂Monensin)	200次
C1749	BeyoFC™ Plus固定与通透试剂盒(含阻断剂BFA)	200次
C1752	BeyoFC™ FcR封闭剂(Human)	50次/200次
C1755	BeyoFC™ FcR封闭剂(Anti-mouse CD16/CD32)	50次/200次
C1758	BeyoFC™小鼠脾脏单细胞悬液制备试剂盒	20次/100次
C3702	红细胞裂解液	120ml/500ml

Version 2025.03.10