

Fluorescent Human CLDN18.2 Full Length Protein-VLP 检测

Anti-Claudin-18.2 CAR 细胞阳性率标准操作流程

1. 实验目的

流式鉴定 Anti-Claudin-18.2 CAR 细胞阳性率。

2. 仪器试剂耗材

仪器：离心机，制冰机，振荡器，各种规格移液枪，分析型流式细胞仪

试剂：BSA、1×PBS，NBS

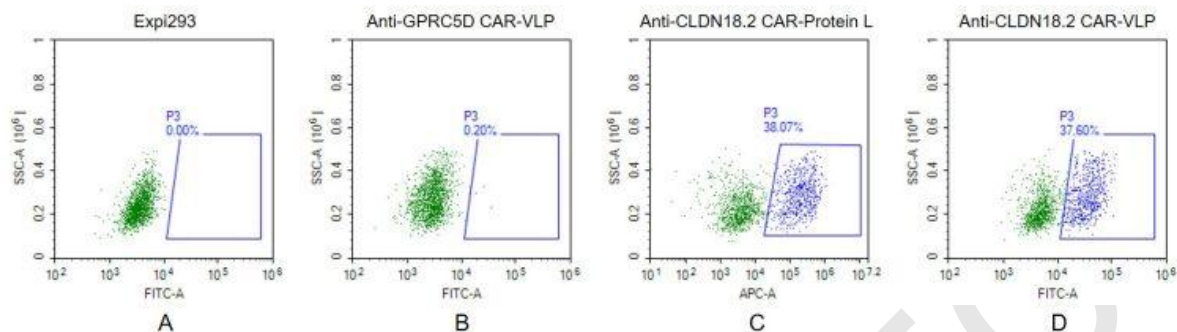
耗材：不同规格移液吸头，96 孔板，避光用锡箔纸

3. 实验步骤

1. 细胞收集处理：将 Anti-Claudin-18.2 CAR 细胞及对照细胞直接收集至离心管中，1500rpm 离心 5min，弃去培养基，加入 PBS 洗细胞 1 次，1500rpm 离心 5min 去除上清。
2. 封闭：加入 PBS 重悬细胞，加入 5%体积的 NBS 封闭细胞，混匀后室温孵育 15min，1500rpm 离心 5min，去掉上清。
3. 洗涤：用新配制的 0.2% BSA 重悬细胞 1 次，1500rpm 离心 5min，去除上清。
4. 细胞培养板区域划分：根据样品情况，在 96 孔板上划分各个项目孔位区域，特别标记阴阳对照，靶点区域等信息。
5. 细胞铺板：向细胞沉淀加入一定体积的 0.2% BSA 重悬细胞，将细胞悬液分装到 96 孔板对应孔中，每孔 50 μ l 细胞悬液。
6. 反应：将 Fluorescent Human CLDN18.2 Full Length Protein-VLP 使用 0.2% BSA 稀释至 25-50 μ g/ml，每孔加入 50 μ l，震荡重悬细胞，冰上孵育 30min。
7. 洗涤：孔板 2390rpm 离心 3min，轻甩去上清，每孔加入 150 μ l 0.2%BSA，2390rpm 离心 3min，轻甩去上清，最后每孔加入 100-150 μ l 0.2%BSA 重悬。
8. 检测：流式上机检测，使用 FITC 通道。



FACS analysis of CLDN18.2 VLP



- A. Negative Control 1: Expi293 cells were stained with Fluorescent Human CLDN18.2 Full Length Protein-VLP (EGFP).
- B. Negative Control 2: Anti-GPRC5D-CAR-Expi293 cells (an irrelevant CAR) were stained with Fluorescent Human CLDN18.2 Full Length Protein-VLP (EGFP).
- C. Positive Control: Anti-CLDN18.2-CAR-Expi293 cells were stained with biotin labeled Protein L, followed by streptavidin-APC antibody.
- D. Anti-CLDN18.2-CAR-Expi293 cells were stained with Fluorescent Human CLDN18.2 Full Length Protein-VLP (EGFP).

