

Rat anti-Mouse IFN gamma- Functional Grade

货号:

AM1011005 50 µg

【产品介绍】

IFN-γ (干扰素γ, II型干扰素)是一种巨噬细胞活化因子和免疫干扰素,主要由T淋巴细胞和自然杀伤细胞响应抗原、丝裂原、葡萄球菌肠毒素B、植物血凝素及其他细胞因子而产生。该干扰素是由两个146个氨基酸亚基组成的二聚体蛋白,其功能形式为约45 kDa的糖基化同源二聚体。在SDS-PAGE电泳中,由于糖基化程度差异,IFN-γ会呈现25 kDa、20 kDa及微弱的15.5 kDa条带组合。IFN-γ同源二聚体的生物活性具有高度种属特异性,人源IFN-γ与小鼠无交叉反应性。

种属反应: 小鼠 **偶联物:** Functional Grade

宿主/亚型: 大鼠/IgG1, kappa **分类:** 单抗

浓度 1 mg/mL **克隆** XMG1.2

储存条件: 4°C, 避光, 切勿冷冻!

【应用】

实验应用	建议稀释比
功能检测 (Functional)	Assay-Dependent
中和实验 (Neu)	Assay-Dependent

【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:

小鼠细胞: 染色前, 每100 µL细胞标本加入0.5-1 µg抗小鼠CD16/CD32纯化抗体(#AM1016110), 在2-25°C温度下预先孵育细胞10-20分钟。

3. 每管或每孔加入50 µL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 µL(例如, 50 µL细胞加入50 µL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°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 µL。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

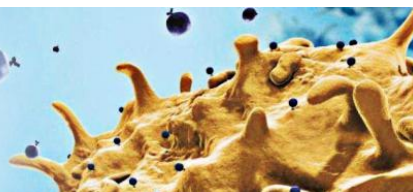
8. 在2-8°C或冰上孵育60分钟。

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 µL。室温400-600xg离心5分钟, 弃上清。

10. 重复第9步。

11. 使用100 µL流式细胞染色液稀释适量的荧光二抗, 重悬细胞。2-8°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 µL。



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 (#225693) 或 FVD 染料，对细胞染色以区分死活细胞。

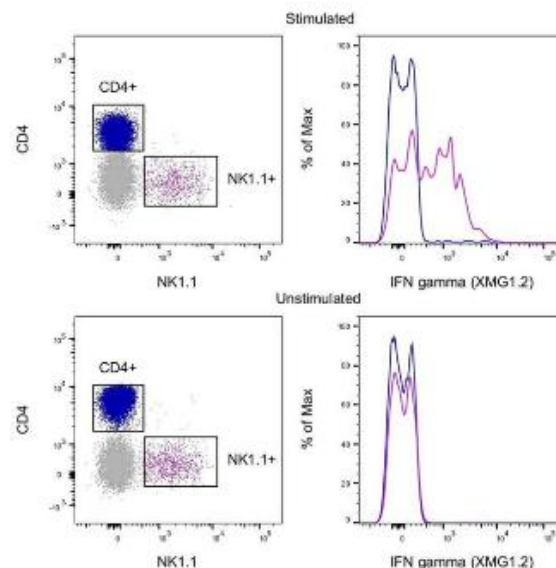
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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】



对刺激后小鼠脾细胞进行细胞内染色。根据已知表达模式可观察到：IFN- γ 克隆 XMG1.2 可标记少量 CD4+T 细胞亚群及较多 NK1.1+NK 细胞亚群，而未刺激组未见染色信号。实验详情：将小鼠脾细胞在蛋白转运抑制剂（500X）（未刺激组，下图）或细胞刺激混合物（含蛋白转运抑制剂，500X）中培养 5 小时（刺激组，上图）。采用 IC 固定破膜试剂盒及相应方案对细胞进行固定破膜处理，随后进行 CD4（克隆 RM4-5）、NK1.1（克隆 PK136）和 IFN- γ （克隆 XMG1.2）的细胞内染色。以 CD4+（蓝色直方图）与 NK1.1+（紫色直方图）门内细胞作为分析对象。