

Rat anti-Mouse IL-4- Functional Grade

货号:

AM1014005	50 µg
AM1014010	100 µg
AM1014050	500 µg

【产品介绍】

白细胞介素-4 (IL-4) 是一种多效性免疫调节细胞因子, 由活化 T 细胞产生, 可作为白细胞介素 4 受体的配体。研究发现 IL-4 具有最广泛的作用谱。该白细胞介素 4 受体也能与 IL-13 结合, 这可能是该细胞因子与 IL-13 具有众多重叠功能的原因。STAT6 (信号转导与转录激活因子) 已被证实介导 IL-4 免疫调节信号中起关键作用。IL-4 基因与 IL-3、IL-5、IL-13 及 CSF2 在染色体 5q 上共同构成一个细胞因子基因簇, 其中 IL-4 在染色体上与 IL-13 位置尤为接近。

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	11B11
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
免疫染色 (IS)	0.125 µg/mL

【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。

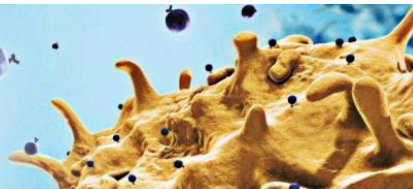
A. 荧光直标抗体检测

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。

【检测数据】

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 μ L。

13 室温 400-600xg 离心 5 分钟，弃上清。

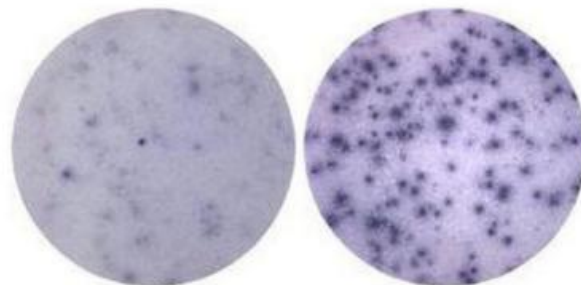
14. [可选]依照相应的细胞活性染料，如 7-AAD (#225693) 或 FVD 染料，对细胞染色以区分死活细胞。

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°C避光保存 12 小时，固定后的细胞可以在 2-8°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。



在针对 8 周龄小鼠的 IL-4 ELISPOT 检测中，对预先经卵清蛋白（OVA）/不完全弗氏佐剂（IFA）免疫的小鼠脾细胞进行 OVA 抗原回忆激活（持续 36 小时）。对照组仅使用培养基。