

## FlowCyto™ Mouse anti-Human IL-17A- APC

货号:

AH0317125 25 Tests

AH0317110 100 Tests

### 【产品介绍】

白细胞介素-17A (IL-17A, CTLA-8) 是一种 CD4+ T 细胞来源的细胞因子,可促进细胞系的炎症反应,在类风湿关节炎、哮喘、多发性硬化症、牛皮癣和移植排斥反应中升高。IL-17A 是一个 32 kDa 长,二硫键连接的同型二聚体,由 136 个氨基酸组成,是 6 种蛋白质家族 (IL-17A-17F) 的成员,并通过 IL-17 受体 (IL-17R/CDw217) 发出信号。

种属反应: 人                      偶联物: APC

宿主/亚型: 小鼠 / IgG1,      分类: 单抗  
                  kappa

浓度                      5 μL/Test      克隆                      eBio64DEC17

储存条件: 4°C, 避光, 切勿冷冻!

### 【应用】

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	5 μL (0.06 μg)/test

### 【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:  
人细胞: 染色前, 每 100 μL 细胞标本加入 20 μL 人 Fc 受体结合抑制剂, 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(10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> 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。

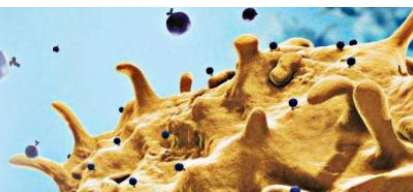
### A. 荧光直标抗体检测

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。

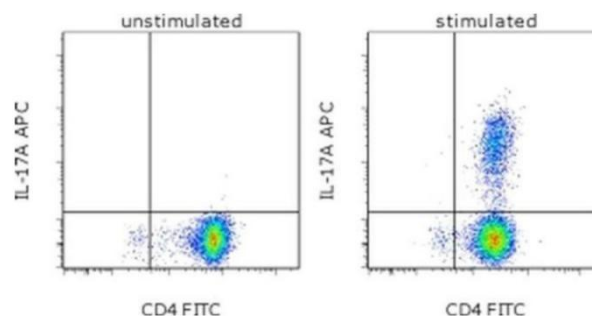
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本, 可以 100  $\mu$ L 流式细胞染色液中重悬细胞, 加入 100  $\mu$ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

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  $\mu$ 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】



富含 CD4 的人外周血细胞在 Th17 条件下极化 (与人 IL-23 重组蛋白) 极化 10 天。用蛋白转运抑制剂混合物 (左) 或细胞刺激混合物 (加上蛋白转运抑制剂) (右) 重新刺激细胞 6 小时。使用固定和渗透缓冲液, 用抗人 CD4 FITC 和抗人 IL-17A APC 进行细胞内染色。使用固定活性染料 eFluor 450 测定的活细胞用于分析。