

Mouse脾細胞のTh9極性化

イントロダクション

Th9細胞はTヘルパー細胞の亜集団で、アレルギー性疾患に関与したり、腸内線虫に対する耐性が特徴です。レギュラトリ-T細胞と異なり、Th9細胞は抑制性ではなく、他のエフェクターT細胞とともにT細胞増殖を促進します。Th9細胞は、Th1, Th2, Th17, Foxp3+ iTreg集団のそれらと明確に区別され、T-bet転写因子GATA3, ROR γ t, Foxp3のような詳細に明らかにされた転写制御因子のいくつかは発現しません。TGF- β は、IL-16分泌の特徴的な特性を失ったTh2 Tヘルパー細胞をプログラムし直し、IL-9分泌に切り替えます。Th9細胞の分化は、TGF- β とIL-4の組み合わせによって得られます。そのうえ、IFN- γ の中和は、Th9細胞への経路を動かすために、重要です。ここに、in vitroでマウスTh9細胞の生成に効果的なプロトコルを提供します。

脾細胞のTh9極性化

1. 抗マウスCD3 ϵ (クローン145-2C11 (5 μ g/mL))で、プラスチックペトリ皿60 \times 15mmをコーディングします。37°C 2時間、もしくは4°Cで一晩インキュベートします。無菌操作で、プレートを傾け、抗体溶液の上清を移します(デカントします)。その後、滅菌PBSで3回プレートを洗浄し、液体を捨てます。
2. 1×10^6 /mLで脾細胞をプレートに蒔きます。抗マウスCD28(クローン37.51, 5 μ g/mL)、組換え型マウスIL-4 (10ng/mL)、組換え型マウスIL-2(20ng/mL)、抗マウスIFN- γ (10 μ g/mL)の存在下で、3日間細胞培養します。
3. 3日目に、細胞を一度洗います。その後、ブレフェルدينAの存在下で、500 ng/mLのPMAと500 ng/mLイオノマイシンの入った完全培地で、6時間再刺激します。
4. 回収後、細胞は染色の準備が整います。

Materials

- Sterile PBS
- Cell culture medium (RPMI 1640 supplemented with 10% FBS)
- Sterile plastic petri dishes
- RBC Lysis Buffer (cat. # 420301)
- Anti-mouse CD3 ϵ , clone 145-2C11 (LEAF™ format, cat. # 100314)
- Anti-mouse CD28, clone 37.51, (LEAF™ format, cat. # 102112)
- Anti-mouse IFN- γ (LEAF™ format, cat. # 505812)
- Recombinant mouse IL-4 (cat. # 563202)
- Recombinant human TGF- β 1 (carrier-free) (cat. # 580702)
- Recombinant mouse IL-2 (cat. # 575402)
- Brefeldin A (cat. # 420601)
- PMA (cat. # P8139 from Sigma)
- Ionomycin (cat. # I0634 from Sigma)

References

1. Soler, D. *et al.* 2006. *J Immunol.* 117:6940.
2. Schmitt, E. *et al.* 1994. *J Immunol.* 153:3989.
3. Veldhoen, M. *et al.* 2008. *Nat Immunol.* 9:1341.
4. Darhalhon, V. *et al.* 2008. *Nat. Immunol.* 9:1347.

トミーデジタルバイオロジー株式会社
カスタマーサポート

〒110-0008東京都台東区池之端2-9-1
TEL : 03-5834-0843 Fax : 03-5815-0813
mail : Biolegend@digital-biology.co.jp