

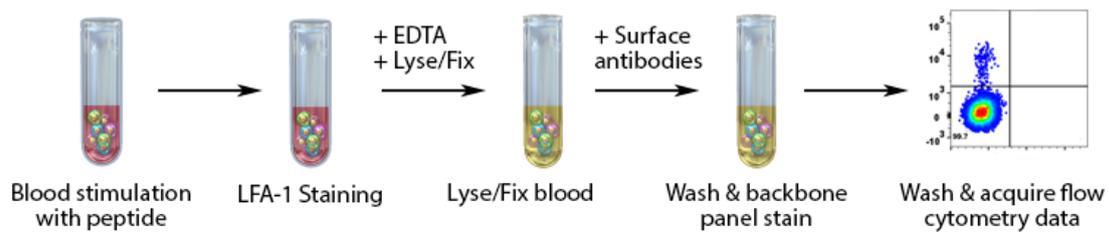
【今更聞けない、、、フローサイトメトリー実験における ネガティブ/ポジティブコントロールの重要性】

フローサイトメトリー実験に関する、今更聞けない質問にお答えする「今更聞けない、、、」ですが、今回はフローサイトメトリー実験においても陰性コントロールおよび陽性コントロールが必要なのか、についてお話ししたいと思います。

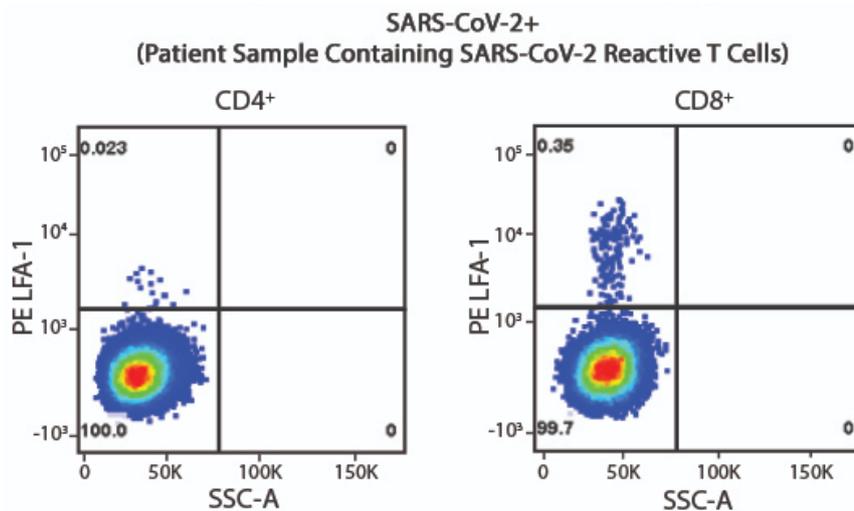
一例として、BioLegend 社製品の SARS-CoV-2 Reactive T cell Kit を挙げます。このキットは、SARS-CoV-2 特異的な T 細胞を FCM にて測定するための試薬キットです。

キットには、SARS-CoV-2 のペプチドプールが含有されており、それをヒトの全血に添加しインキュベートすることで、SARS-CoV-2 ペプチドに対して特異的な T 細胞が活性化します。活性化マーカーである LFA-1 抗原に対する抗体を細胞に結合させることで、活性化した T 細胞を検出する仕組みです。

■ プロトコル概要



測定結果の一例を下記に示しますが、CD4 陽性 T 細胞のうち、SARS-CoV-2 特異的な T 細胞はわずか 0.023% ほどです。SARS-CoV-2 に限らず、何かのペプチド特異的な T 細胞というのは多くの場合このように非常に少ないことが多いです。

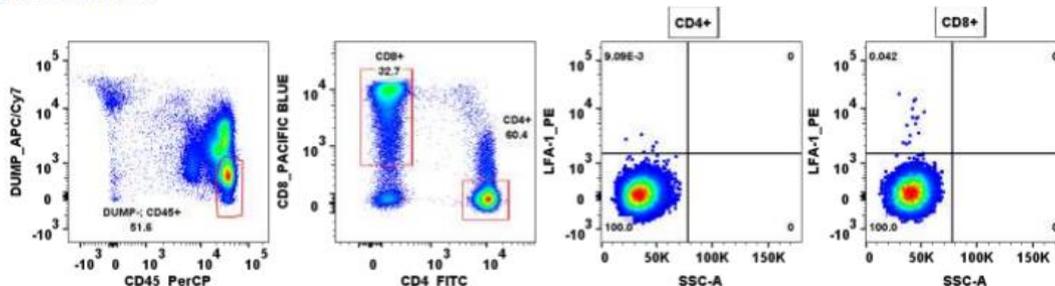


このように検出すべき細胞分画が希少な場合、

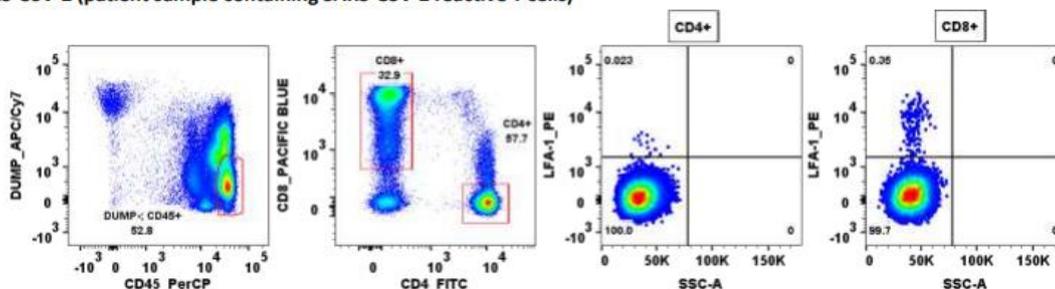
- ① 活性化実験がうまくいっているのか、
- ② 抗体染色がうまくいっているのか、 ということは常に確認が必要です。

まず①を確認するために、このキットには、陰性コントロールと陽性コントロールが付属しています。ペプチド刺激前にサンプルを3つに分けて、それぞれ陰性コントロール、陽性コントロール、ペプチド刺激を行うことで、活性化実験がうまくいっているのかを確認出来ます。

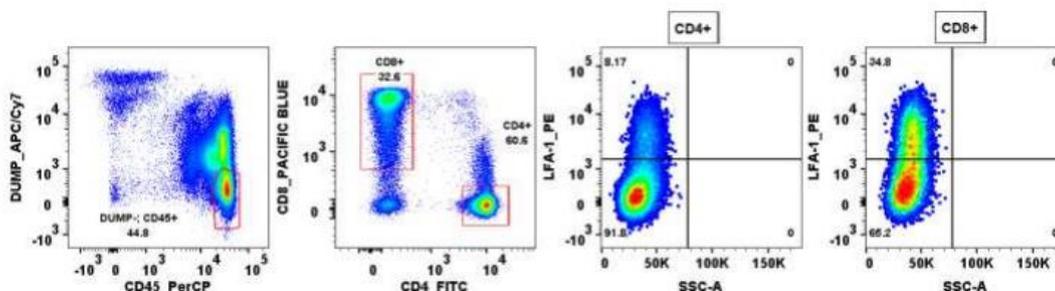
NEGATIVE CONTROL



SARS-CoV-2 (patient sample containing SARS-CoV-2 reactive T cells)



POSITIVE CONTROL (Cell activation cocktail)



陰性/陽性コントロールサンプルと比較することで、①の活性化実験系がうまくいっていること、②の染色がうまくいっていることも証明できます。

このように、実験の性質や、測定したい細胞の希少性を考慮して、どのようなコントロールが必要かを見極めることも必要です。

■ SARS-CoV-2 Reactive T cell Kitの詳細 [※フローサイトメトリー関連製品キャンペーン対象品\(#345903\)](https://www.biolegend.com/ja-jp/products/sars-cov-2-reactive-t-cell-kit-22044)

<https://www.biolegend.com/ja-jp/products/sars-cov-2-reactive-t-cell-kit-22044>

■ SARS-CoV-2 関連製品紹介ページ

<https://www.biolegend.com/ja-jp/sars-cov-research#cellularResponse>

■「今更聞けない、、、」シリーズ お題大募集中■

フローサイトメトリー実験についての「今更聞けない、、、」なことを大募集しています。

TDB News に採用された方にはオリジナル USB メモリーをプレゼントします。

お題お申込み、過去の記事は[こちら](#)からご確認ください。

TDB News 7.2022

トミーデジタルバイオロジー株式会社

Phone 03-6240-0843

Fax 03-6240-0461