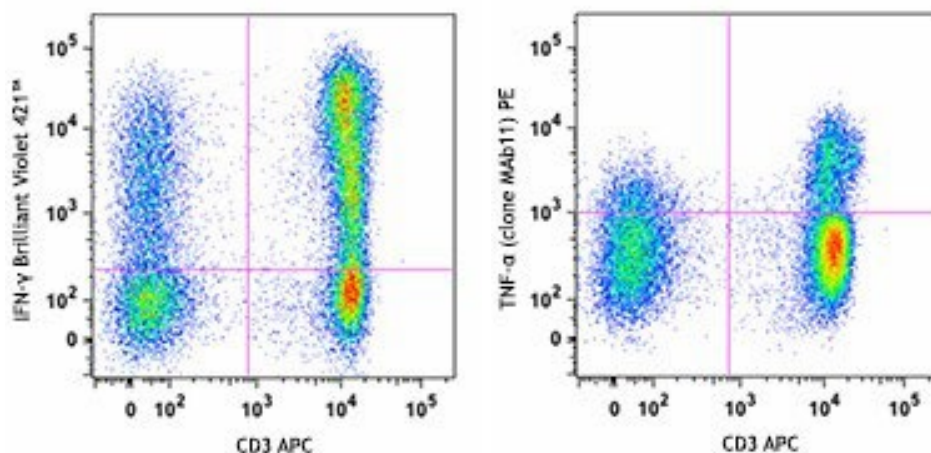


【今更聞けない、、、サイトカイン細胞内染色したいときには、 どうやって細胞に刺激を入れたらよいの??】

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、今回はサイトカインをターゲットにした際の細胞内染色における細胞刺激についてお話ししたいと思います。

ELISA や LEGENDplex などの液性因子の測定では、培養液中のサイトカイン濃度はわかりますが、実際にどの細胞が該当サイトカインを産生しているのかまではわかりません。

細胞内のサイトカインに蛍光標識抗体を結合させてフローサイトメーターで測定する、細胞内染色を行うことで確認することができます。



サイトカインの細胞内染色を行う際の細胞準備として必要なことは、以下の2つです。

1. 細胞を活性化させ、細胞にサイトカインを産生させること
2. 産生されたサイトカインが排出されないようにゴルジ体の働きを止めておくこと

以下では、この2項目についてそれぞれ説明していきます。

1 の細胞活性化についてですが、サイトカインによってターゲットとなる細胞や刺激の種類、それから適正な刺激時間が異なります。

かなり汎用性の高い刺激としては、PMA と ionomycin の組み合わせがあります。

2 のゴルジ体の働きを停止させることのできる代表的な試薬には、monensin ([420701](#)) と Brefeldin A ([420601](#)) があります。ほとんどの場合どちらを使っても問題ありませんが、Brefeldin A のみが推奨される場合もあります。

BioLegend 社では、1 と 2 で必要な因子をまとめたカクテルもご用意がございます。

関連製品リスト

製品名	製品番号	容量
サイトカイン測定時の固定・開孔試薬		
Cyto-Fast™ Fix/Perm Buffer Set ・開孔前の細胞を固定する薬剤と固定後の細胞を開孔する薬剤のセット	426803	300 tests
Fixation Buffer ・開孔前の細胞を固定	420801	100 mL
Intracellular Staining Permeabilization Wash Buffer (10X) ・固定後の細胞を開孔	421002	100 mL
細胞を活性化する試薬		
Cell Activation Cocktail (without Brefeldin A) ・PMA (40.5 μM) and ionomycin (669.3 μM)	423301	100 uL
	423302	400 uL
Cell Activation Cocktail (with Brefeldin A) ・PMA (40.5 μM) , ionomycin (669.3 μM), Brefeldin A (2.5 mg/mL)・Brefeldin A 含有のため、タンパク質分泌が抑制される	423303	100 uL
	423304	400 uL
培養時にサイトカイン等をゴルジ体にとどめておくために		
Brefeldin A Solution (1,000X) ・シス/中間ゴルジ嚢から小胞体へタンパクを戻し、タンパク分泌を阻害	420601	1 mL
Monensin Solution (1,000X) ・ゴルジ体トランス面の Na ⁺ /H ⁺ 輸送を阻害	420701	1 mL
最終 wash 後、すぐに FCM 測定できない時に		
Cyto-Last™ Buffer ・表面抗原染色後に最大 2 週間まで細胞を保存しておける試薬 ・タンデム色素には不向き、抗原や抗体毎に安定性が異なるため、要検討	422501	100 mL

サイトカインごとの活性化因子と推奨されるブロッカーの詳細に関して、BioLegend 社のウェブページにまとめてありますので、ご興味ある方はぜひご参照ください。

Stimulation Guide for Intracellular Staining of Cytokines/Chemokines

<https://www.biolegend.com/ja-jp/intracellular-staining-stimulation-guide>

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページは[こちら](#)