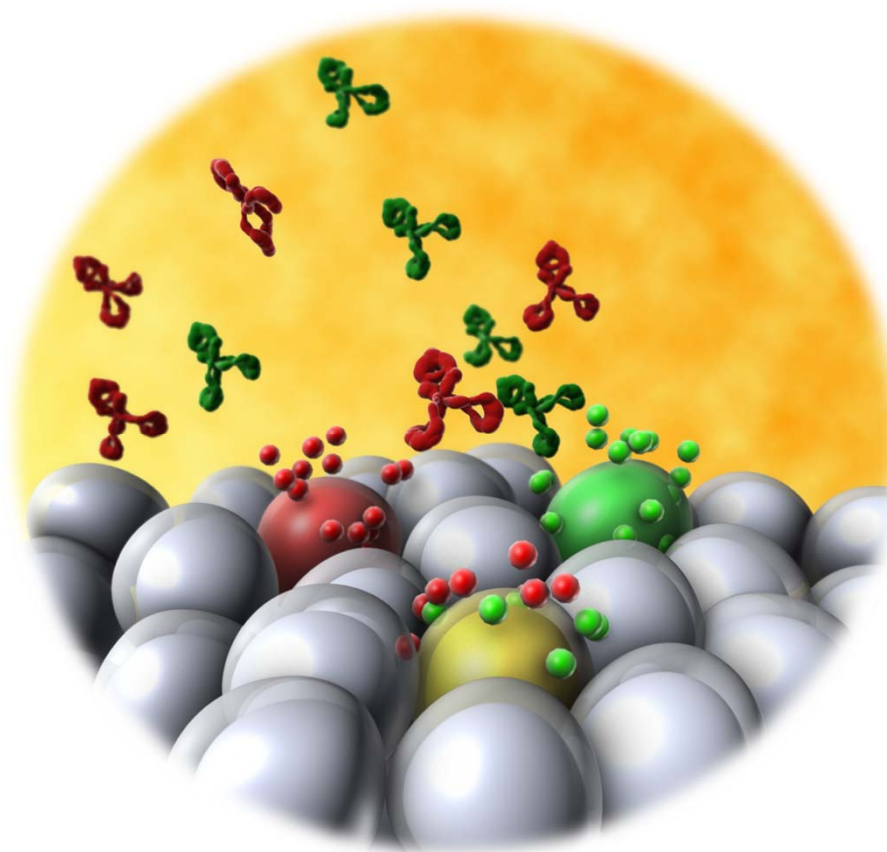
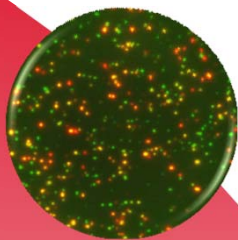
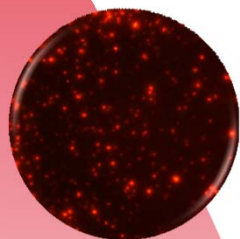


FluoroSpot

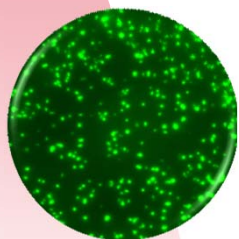




アッセイ原理



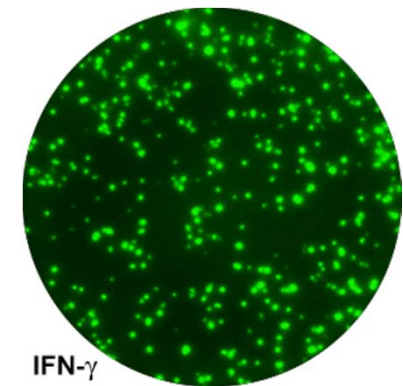
アプリケーション



技術情報

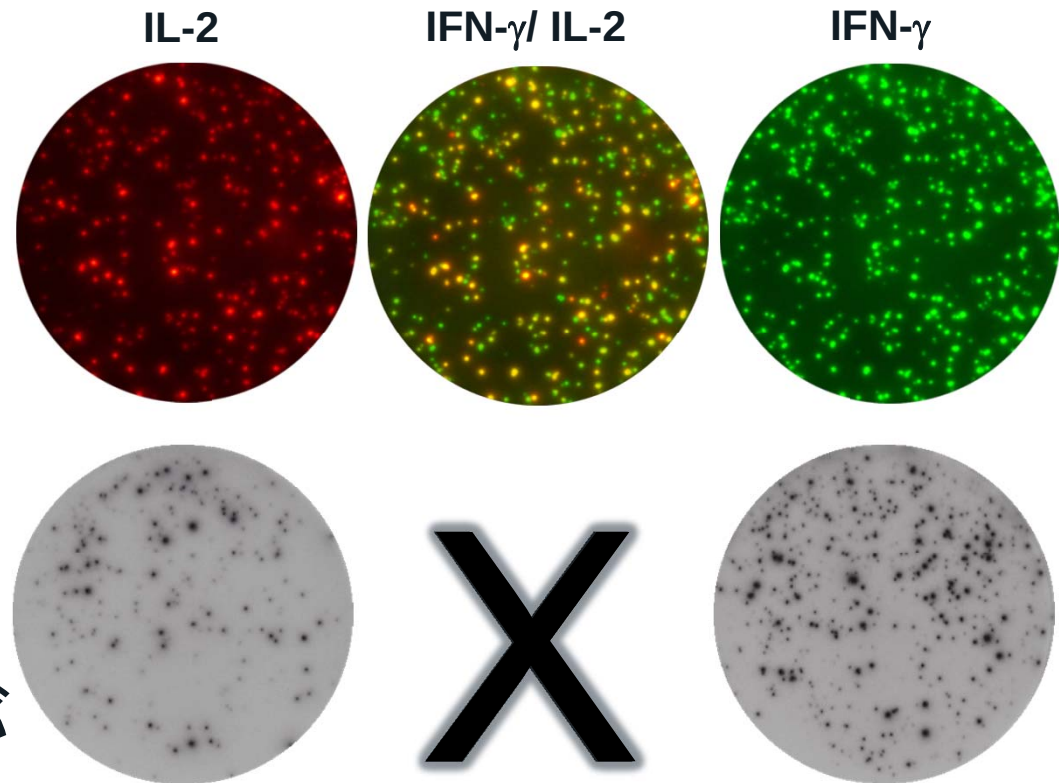
FluoroSpot

- ELISpotと類似
- 酵素の代わりに蛍光ベースの検出
- 分析には蛍光色素分子特異的なフィルターを持つリーダーを準備する必要あり
- 複数のサイトカイン分泌を単一細胞レベルから測定可能

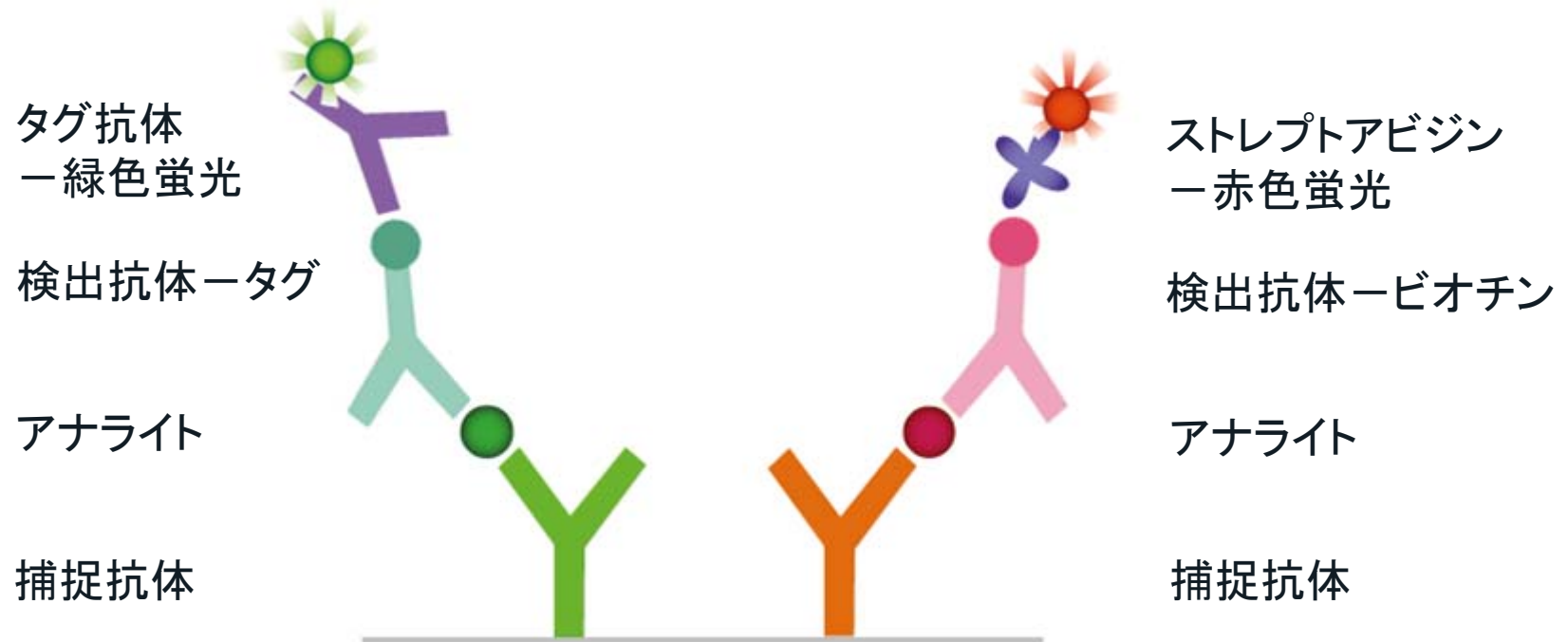


FluoroSpot と ELISpot

- 同等の感度
- FluoroSpotの方が検出に必要な細胞・抗原の量が少ない
- FluoroSpotの方が得られる情報が多い

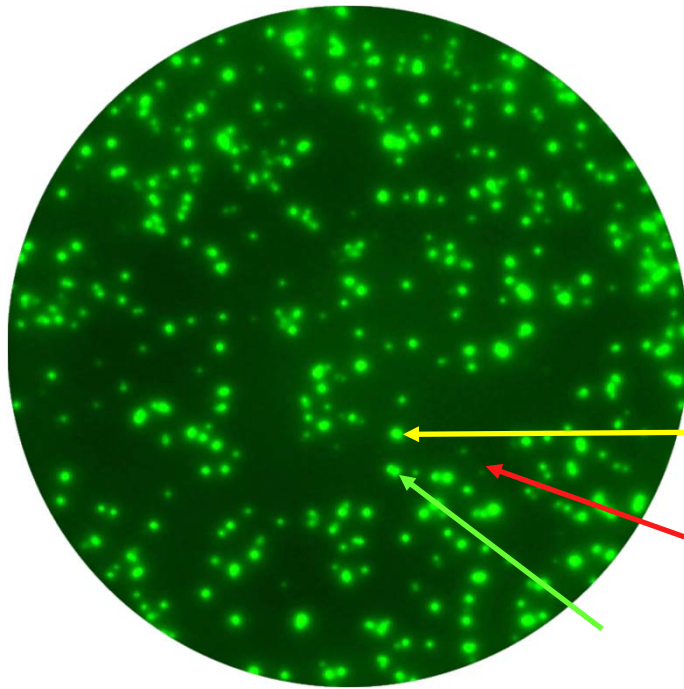


アッセイ原理

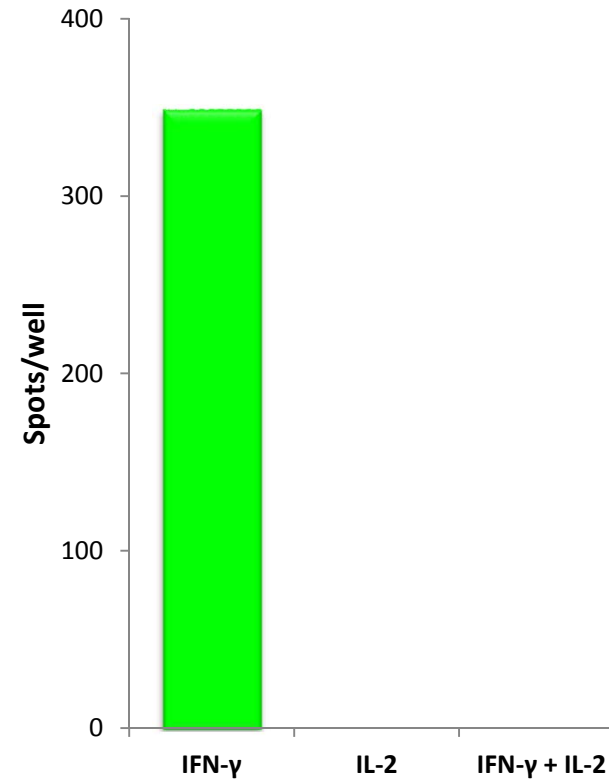


IFN- γ の染色 (緑色)

FITC用のフィルター
のみ使用可能

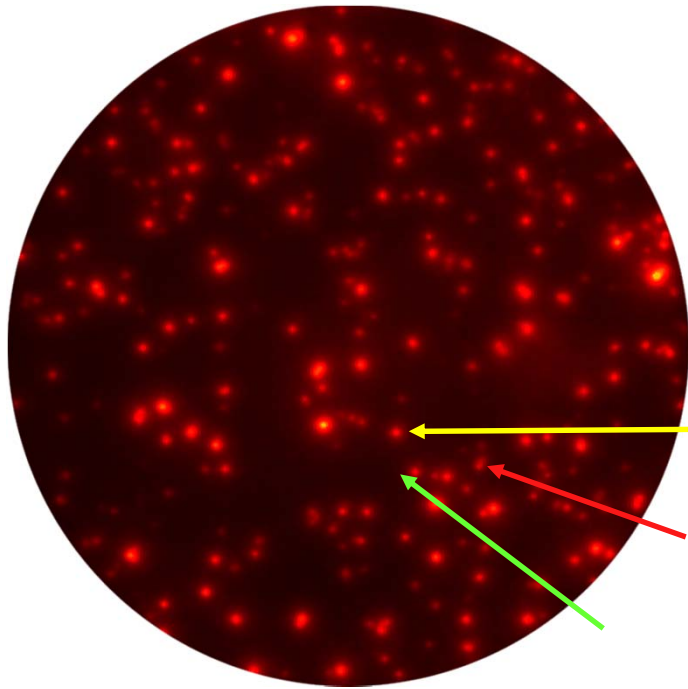


CEFによって刺激されたヒトPBMC
(250,000 cells/well)

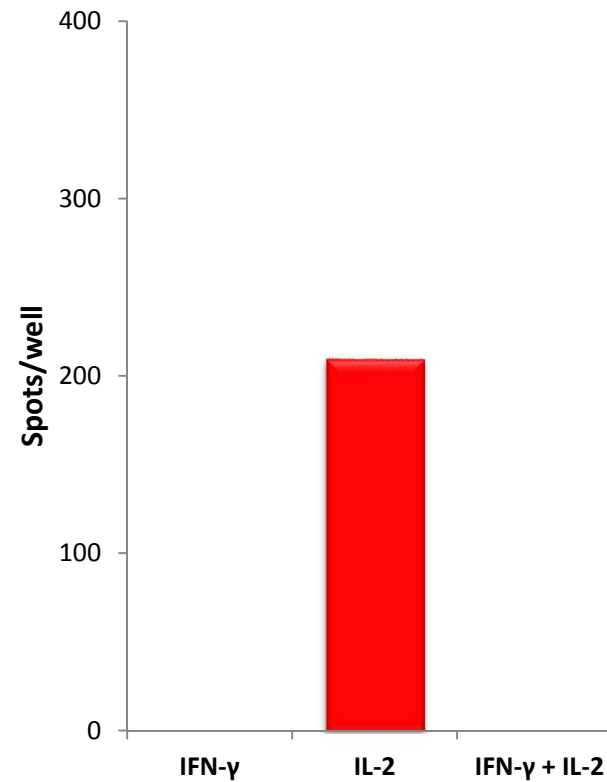


IL-2 の染色 (赤色)

Cy3用のフィルター
のみ使用可能

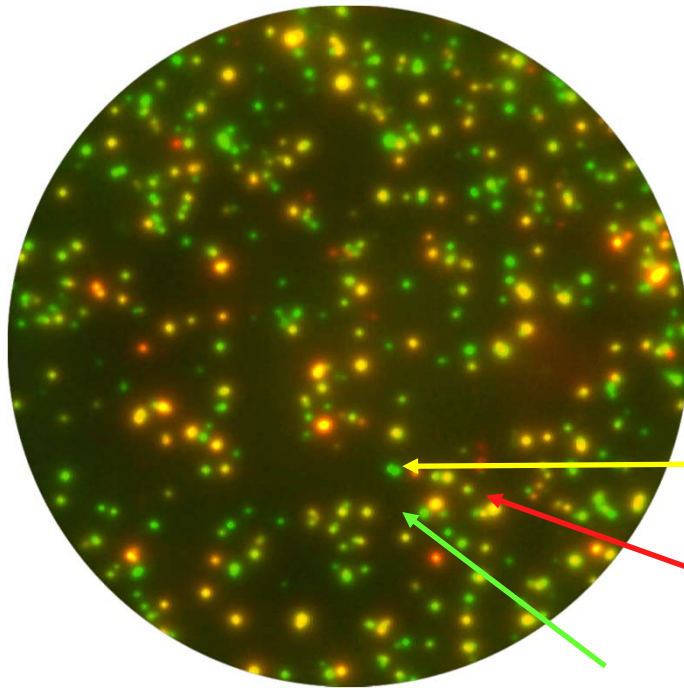


CEFによって刺激されたヒトPBMC
(250,000 cells/well)

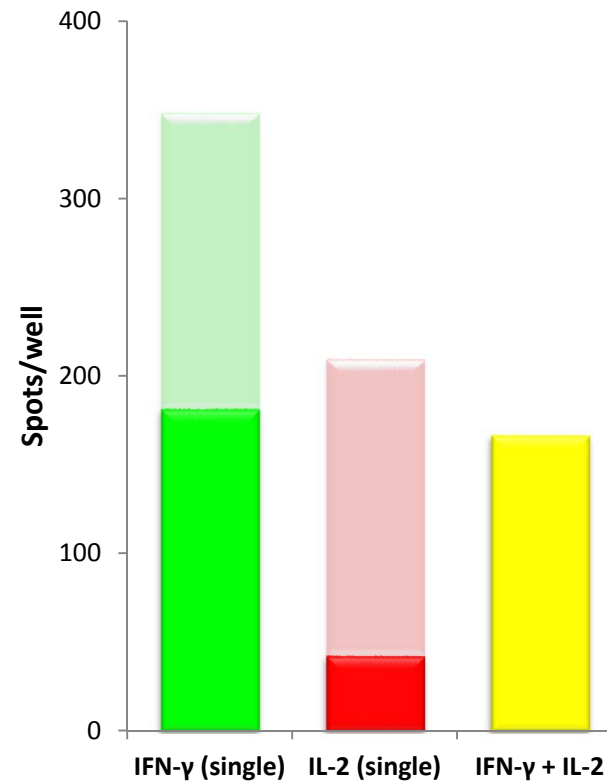


二重染色

二重染色されたスポット(黄色)は、
それぞれ別々に輪郭を示す。

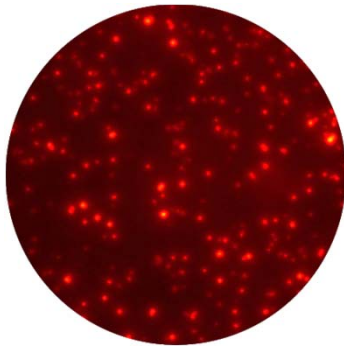


CEFによって刺激されたヒトPBMC
(250,000 cells/well)

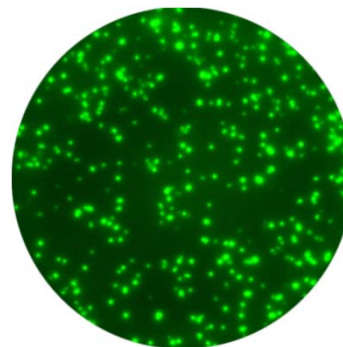
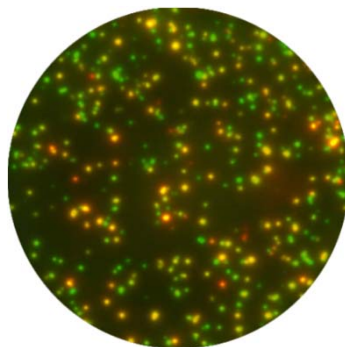


2種類のサイトカインを 同じウェルで測定可能

IL-2



IFN- γ



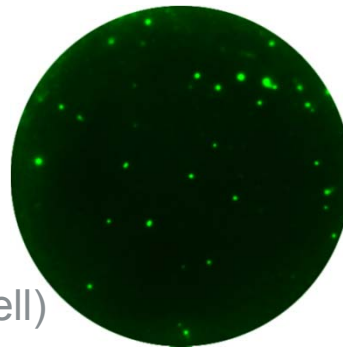
2種類の サイトカインの分泌

CEFによって刺激されたヒトPBMC
(250,000 cells/well)

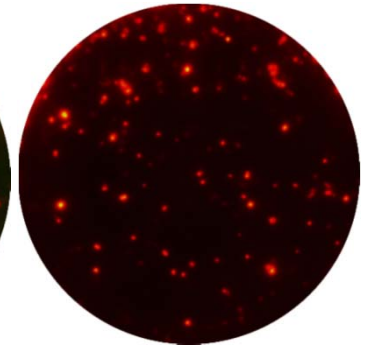
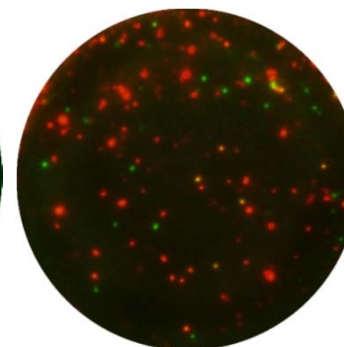
個々のサブポピュレーションの区別

Candida albicans 抽出物によって
刺激されたヒトPBMC (250,000 cells/well)

IFN- γ

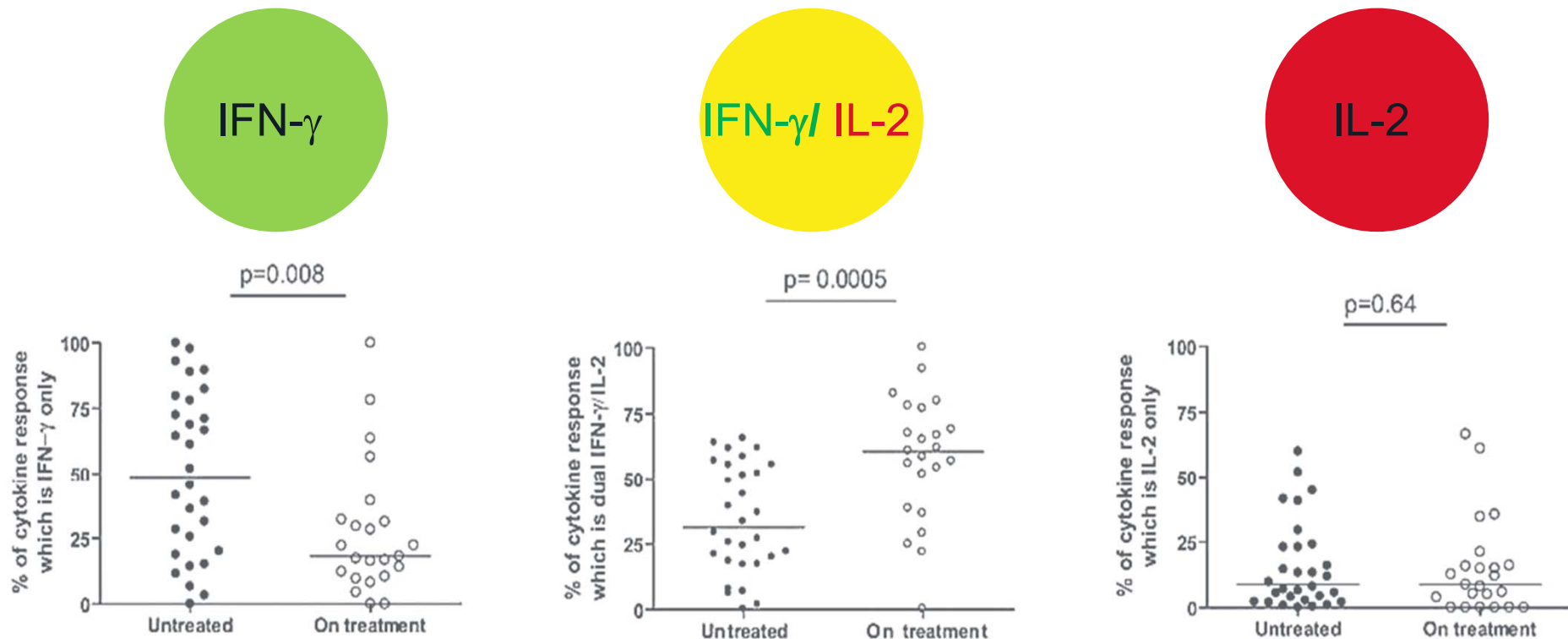


IL-17



結核症の研究

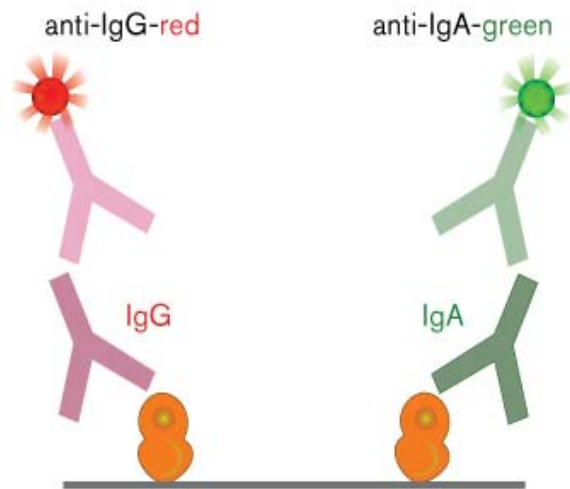
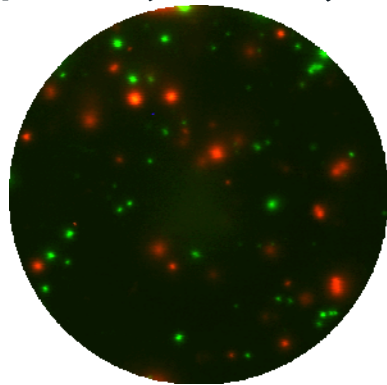
- TBペプチド刺激による応答



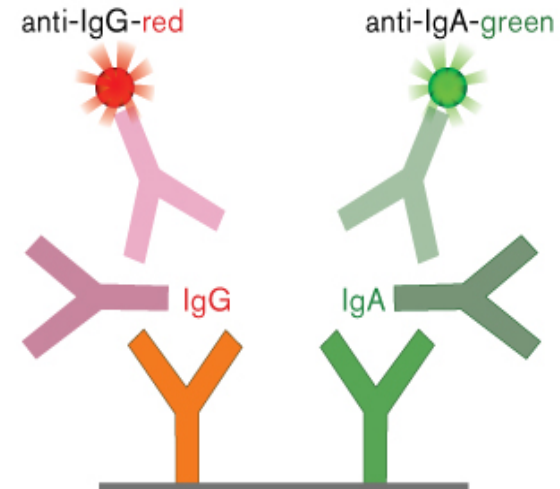
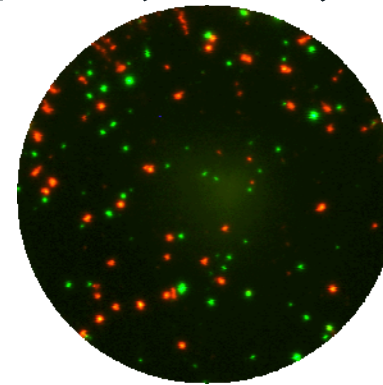
Casey R *et al.* PLoS ONE 5(12) 2010

B細胞の FluoroSpot

抗原特異的
イムノグロブリン



Total
イムノグロブリン

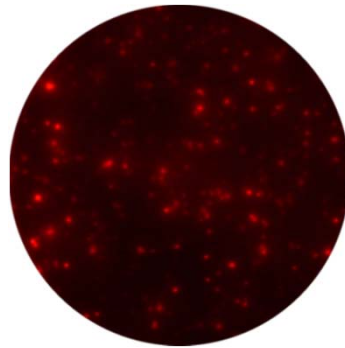


EtOHによる前処理の影響

IL-2

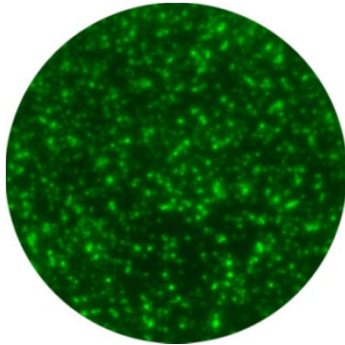
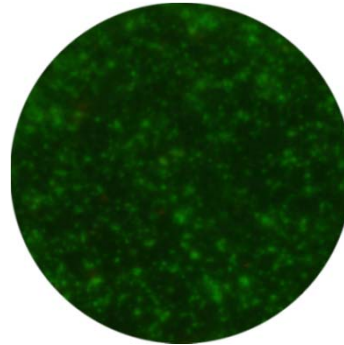


エタノール
処理なし



エタノール
処理あり

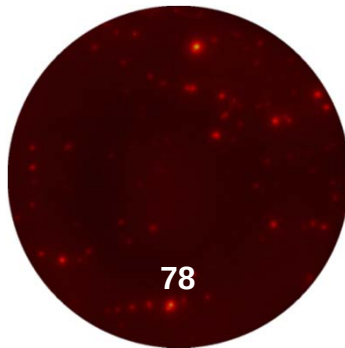
IFN- γ



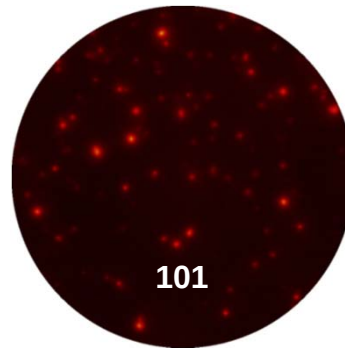
- PVDFのエタノール処理により、蛍光強度が低い場合シグナルが改善される
- 15 μ l 35% EtOH で最大1分
- 5X 200 μ l dH₂O で洗浄

蛍光エンハンサー

IL-2



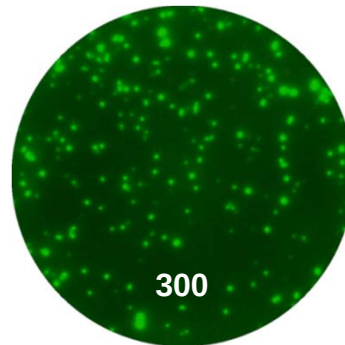
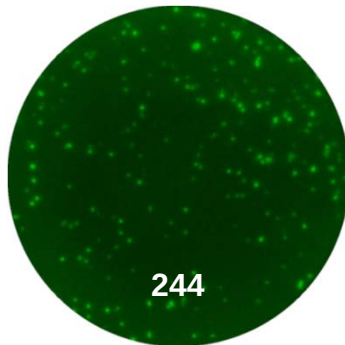
処理なし



+ エンハンサー

- エンハンサーの添加は、スポットの数と蛍光強度を増加させる

IFN- γ



CEFによって刺激されたヒトPBMC
(250,000 cells/well)

FluoroSpot システム

T 細胞

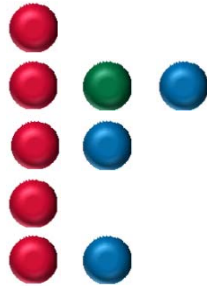
IFN- γ / Granzyme B

IFN- γ / IL-2

IFN- γ / IL-5

IFN- γ / IL-13

IFN- γ / IL-17A



B 細胞

IgG/IgA



単球, マクロファージ, 樹状細胞

IL-1 β / GM-CSF

IL-1 β / IL-6

IL-1 β / IL-12/-23 (p40)

IL-1 β / TNF- α

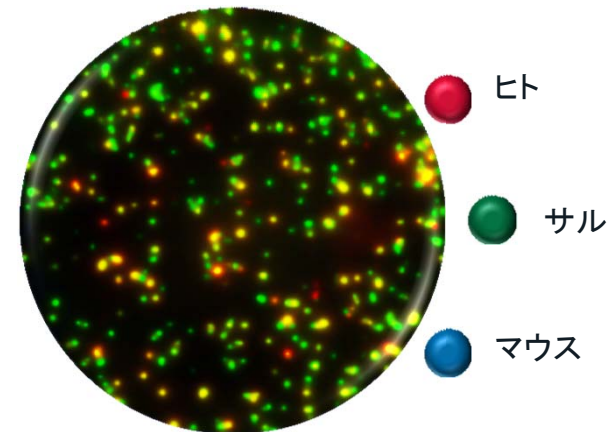
IL-6 / GM-CSF

IL-6 / IL-12/-23 (p40)

IL-6 / TNF- α

TNF- α / IL-12/-23 (p40)

TNF- α / GM-CSF





Thank you

The Mabtech team
for more information contact
mabtech@mabtech.com