

イヌ制御性T細胞の検出

制御性T細胞(regulatory T cell, Treg)は、免疫応答の抑制的制御、免疫寛容を司るT細胞の一種であり、過剰な免疫応答を抑制するためのブレーキ(負の制御機構)や、免疫恒常性を維持するという重要な役割を果たす細胞として、特にアレルギー、自己免疫疾患やがん免疫の分野において世界中で多くの研究者に研究されています。転写因子であるFoxP3は、CD4⁺CD25⁺Tregにおける特異的な分子マーカーであると共に、制御性T細胞の分化におけるマスター遺伝子であることが明らかにされています。ここでは、イヌの制御性T細胞を検出する例をご紹介します。

試薬・装置

- ・ Flow Cytometry Staining Buffer (Affymetrix eBioscience)
- ・ Canine Fc Receptor Binding Inhibitor Purified (Affymetrix eBioscience)
- ・ Anti-Dog CD3 抗体 FITC (AbD Serotec; clone CA17.2A12)
- ・ Anti-Canine CD4 抗体 APC (Affymetrix eBioscience; clone YKIX302.9)
- ・ Anti-Canine CD8a 抗体 PerCP-eFluor[®] 710 (Affymetrix eBioscience; clone YCATE55.9)
- ・ Anti-Canine CD25 抗体 PE (Affymetrix eBioscience; clone P4A10)
- ・ Anti-Mouse/Rat Foxp3 抗体 eFluor[®] 450 (Affymetrix eBioscience; clone FJK-16s^{*1})
- ・ Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set (Affymetrix eBioscience)
- ・ Fixable Viability Dye eFluor[®] 506 (Affymetrix eBioscience)
- ・ フローサイトメーター(対応可能機種) : CyFlow Space
(上記以外の蛍光色素の組合せによってはCyFlow Cube8でも対応可)

サンプル準備・測定

採取したイヌ全血^{*2}から末梢血単核球(PBMC)を抽出し、Canine Fc Receptor Binding Inhibitor Purified にてブロッキングした後、Fixable Viability Dye および表面抗原 (CD3, CD4, CD8a, CD25)に対応する標識抗体で染色します。その後、Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer により固定・膜透過処理を行った後、抗Foxp3抗体にて染色を行い、フローサイトメーターにて測定しました。

注釈

*1; J. Vet. Med. Sci.71(12): 1561- 1568, 2009 "Crossreactivity of Antibodies to Canine CD25 and Foxp3 and Identification of Canine CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Cells in Canine Peripheral Blood" Takuya MIZUNO et al. によりクローン FJK-16sがイヌにもクロスすることが報告されています。

*2; イヌ血液は関内どうぶつクリニック様よりご提供いただきました。

