

## FCMによるアポトーシスの検出 ミトコンドリア膜電位変化およびAnnexinVによる解析

アポトーシスは薬剤開発や発生・再生などの研究分野において広く解析されており、様々な評価法が開発されています。ミトコンドリアはカスパーゼ活性化物質であるシトクロムc(Cytochrome c)の放出を介して、アポトーシスに重要な役割を果たしています。シトクロムcの放出により電子伝達系が変化し、膜電位差が消失することが知られており、膜電位変化の測定によりアポトーシスを評価することが可能です。また、細胞外膜へ露出したホスファチジルセリンをAnnexin Vを用いて検出することで、アポトーシス初期状態を評価することが可能です。本アプリケーションノートでは、フローサイトメーター(FCM)RF-500を用いて、ミトコンドリア膜電位変化および細胞外膜に露出したホスファチジルセリンを検出することによるアポトーシス解析例についてご紹介します。

### 結果

アポトーシスが誘導され、ミトコンドリア膜電位が消失するとMitoProbe DiOC<sub>2</sub>(3) のミトコンドリアへの集合が抑制され、細胞の蛍光シグナルが低下します。また、アポトーシスの進行に伴ってホスファチジルセリンが細胞表面へ露出し、Annexin Vの反応性が増加(PerCP-eFluor™ 710蛍光強度が増加)します。このため、ミトコンドリア膜電位の減少または細胞表面に露出したホスファチジルセリンを検出することで、FCMにより細胞のアポトーシスを評価することが可能です。

スタウロスポリン刺激3時間後にはミトコンドリア膜電位の低下およびアポトーシス初期細胞の増加がJurkat細胞(ヒト急性T細胞性白血病細胞由来細胞株)で確認されました。それらの細胞の割合は刺激6時間後にさらに増加し、細胞のアポトーシスの進行が明確に示されました。

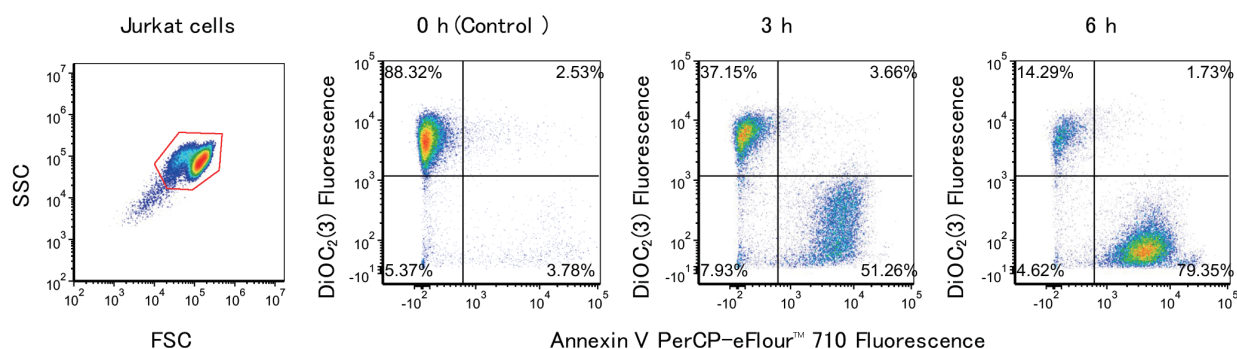


図1 ミトコンドリア膜電位変化とAnnexin V反応性を示したスキャターグラム  
(スタウロスポリン刺激後の時間経過)

