

母乳中のサイトカイン濃度測定

マルチプレックス ビーズ アッセイ法による多種サイトカインの同時検出

母乳中に含まれるサイトカインやケモカインは、免疫系に対する作用因子として乳児のアレルギー反応などに関与することから、近年注目されています。CyFlow シリーズのフローサイトメーターを用いたマルチプレックス ビーズ アッセイ法では、多種類のサイトカインを個別に、定量的に、同時検出することが可能です。ここでは、母乳中に含まれる8種類のサイトカイン濃度の同時測定についてご紹介します。

試薬・装置

- ・ ヒト母乳*¹
- ・ マルチプレックス ビーズ アッセイ: LEGENDplex™ Multi-Analyte Flow Assay Kit, Custom Human 8-plex Panel (BioLegend®)
(測定対象のサイトカイン: G-CSF, GM-CSF, Eotaxin, IL-12p40, MIP-1 α , IFN- α 2, IL-4, IL-1 α)
- ・ フローサイトメーター (対応可能機種): CyFlow Cube 6/Cube 8, Space

サンプル調製・測定

遠心分離により、ヒト母乳中の脂質成分と細胞を分離して乳清を調製しました。乳清中に含まれる8種類のサイトカイン濃度をマルチプレックス ビーズ アッセイ法により同時測定しました。

結果

マルチプレックス ビーズ アッセイ法ではビーズの大きさ (Beads A と Beads B) (図1a) およびビーズ蛍光強度*² の異なる8種類のビーズを用います。標的サイトカインに対する特異的抗体が結合した各ビーズによって認識されたサイトカインを、ビオチン標識抗体および蛍光標識ストレプトアビジン (PE*³ 標識) で検出し (図1b, c)、PE の蛍光強度からサイトカイン濃度を算出しています。

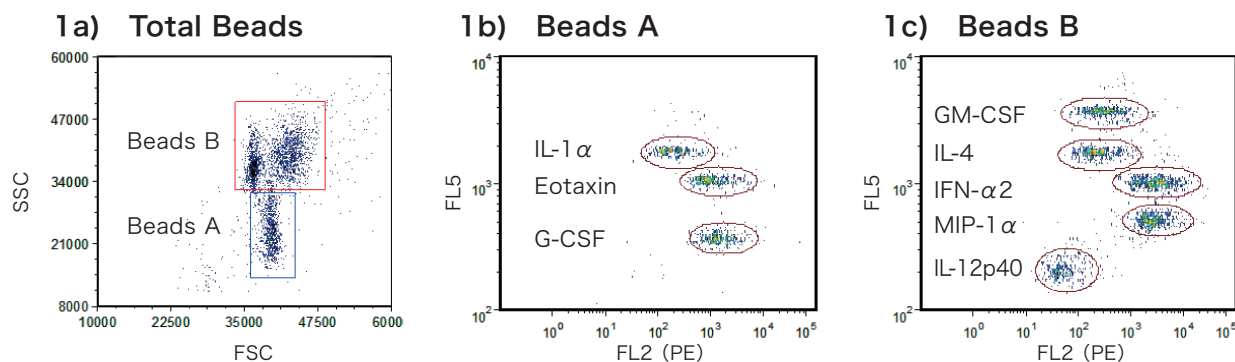


図1 マルチプレックス ビーズ アッセイ法で用いた全ビーズのFSC-SSC スキャッターグラム(a)と Beads A および Beads B をFL2-FL5 で展開させたときのスキャッターグラム(b, c)

注釈

*1; ヒト母乳は千葉大学大学院医学研究院小児病態学 下条直樹教授より提供していただきました。

*2; FL5フィルター (APC検出用チャンネル、675/20) で検出可能。

*3; FL2フィルター (590/50) で検出可能。

濃度既知の標準タンパク質から求めた検量線を用いてサイトカイン濃度を算出し、各サンプル間における8種類のサイトカイン濃度の変動を同時に解析しました(図2)。

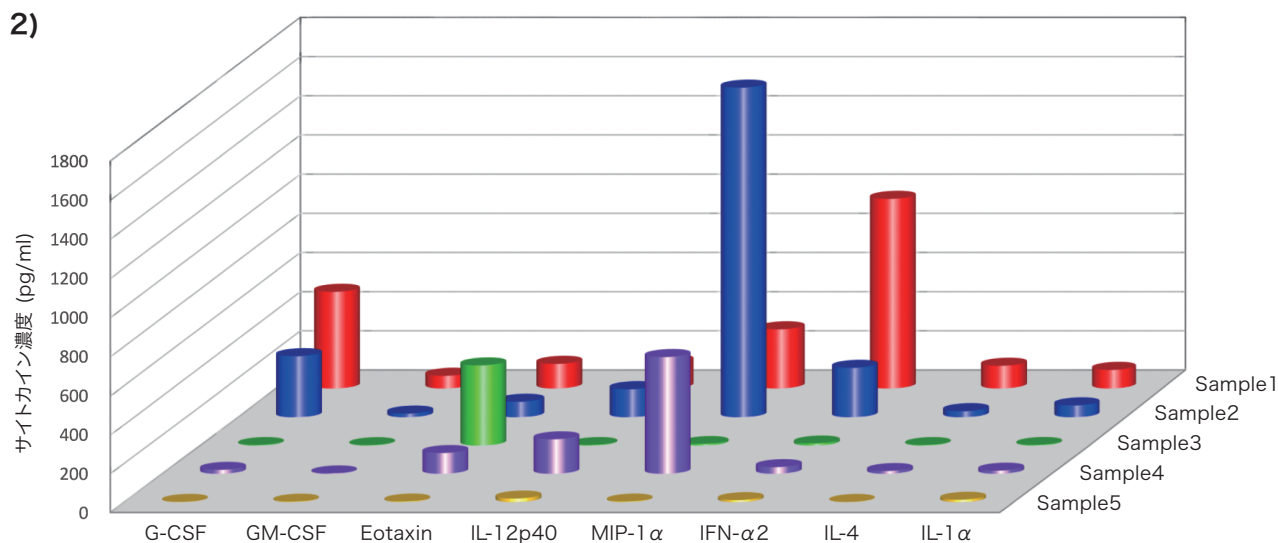


図2 各サイトカイン濃度のサンプル間変動

96ウェルプレートを用いた場合、最大80検体を対象にして多種類のサイトカイン濃度を同時に測定することが可能です(図3)。

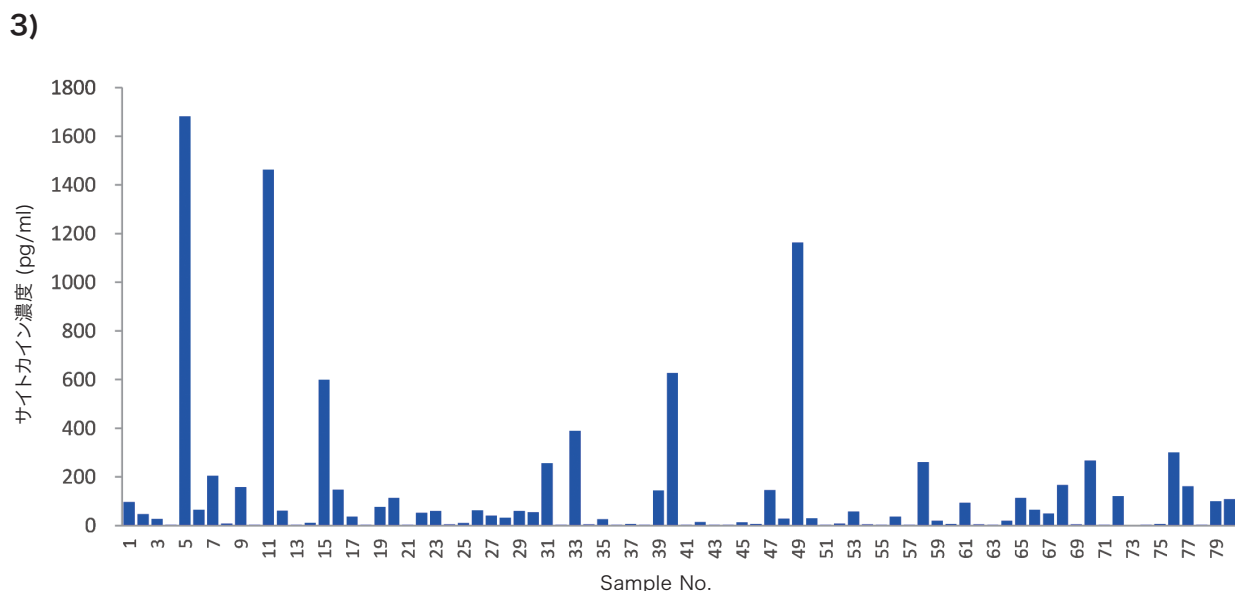


図3 96ウェルプレートを用いた80検体のサイトカイン濃度の同時測定(MIP-1αの濃度測定例)

発行：シスメックス株式会社 R&I事業本部 事業企画部 細胞計測事業推進課

ソリューションセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241 Tel 078-992-6272 Fax 078-991-2317

東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

<http://www.sysmex-fcm.jp>

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。 G1607002_1603_1607II