

MHC多聚体定量检测外周血及组织中抗原特异性CTL的比率

试剂

带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)
欲检测细胞 / 全血
抗-CD8-FITC / 其它抗体
FACs洗涤液 (PBS PH7.3+0.2mg/mlBSA) 新鲜配制。

操作

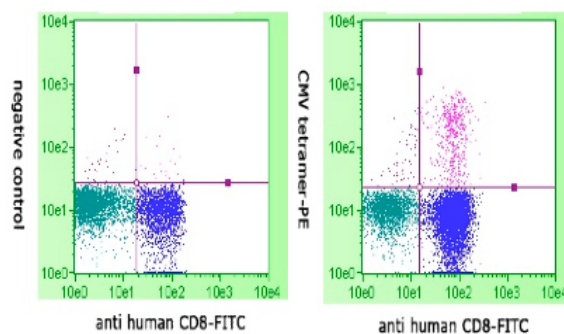
(PBMC或培养T-细胞)

1. 多至 10^6 左右细胞，离心细胞500xg 3分钟，弃上清，细胞沉淀重悬于100ul FACs洗涤液。
2. 在细胞悬液中加入5 μ l 带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)，室温避光反应15分钟。置细胞于冰上，孵育1分钟。加入抗-CD8-FITC /其它抗体。在冰上继续避光反应20分钟。
3. 加入1ml FACs洗涤液洗细胞1次，500xg 3分钟，细胞沉淀重悬于适量FACs洗涤液中。
4. 细胞流式仪分析。

(全血)

1. 全血100—200 μ l，加入5 μ l带有荧光标记的MHC/肽多聚体 (Epimer)，室温避光反应15分钟。裂解红细胞，置细胞于冰上，孵育1分钟。加入抗-CD8-FITC /其它抗体。继续避光反应20分钟。
2. 其它步骤如以上所述步骤3, 4进行。

实例：



HLA-A2阳性PBMC经特异性CMV表位肽刺激10天后，用Flu/Epimer作为阴性对照与CD8-FITC共染细胞（左图）。用CMV/Epimer-PE与CD8-FITC共染细胞（右图），流式细胞仪分析。