

FOXP3細胞内染色プロトコール

細胞表面免疫染色

1. CD3、CD4、CD25等の抗体を細胞表面抗原免疫染色プロトコールに従い染色します。

固定

2. 遠心後の細胞ペレットに1倍濃度のBioLegend FOXP3 Fix/Perm solution 1mlを各チューブに加え、ボルテックスした後、室温暗所で20分間置きます。
3. 250 x g、5分間遠心した後に上清を除きます。

洗浄

4. 2mlのCell Staining Buffer を加え、250 x gで5分間遠心し上清を除きます。

細胞膜透過処理

5. 1ml の1倍濃度 BioLegend FOXP3 Perm bufferを加え、250 x gで5分間遠心し上清を除きます。
6. 1ml の1倍濃度 BioLegend FOXP3 Perm bufferで再懸濁し、室温、暗所で15分間置きます。

遠心

7. 250 x g、5分間遠心した後に上清を除きます。
8. 100µl の1倍濃度 BioLegend FOXP3 Perm bufferで再懸濁します。

細胞内染色

9. 最適な濃度の蛍光標識抗FOXP3抗体を加え、室温、暗所で30分間置きます。

洗浄

10. 2mlのCell Staining Buffer を加え、250 x gで5分間遠心し上清を除きます。
11. もう一度繰り返し、0.5mlのCell Staining Buffer に再懸濁します。

FCM

12. 氷冷中に置き、FCM解析します。

Related Information:

1. Roncador, G., et al., 2005 *Eur. J. Immunol.* 35:1681.

Reagent List:

1. Cell Staining Buffer (Cat. No. 420201)
2. FOXP3 Fix/Perm Buffer Set (Cat. No. 421403)