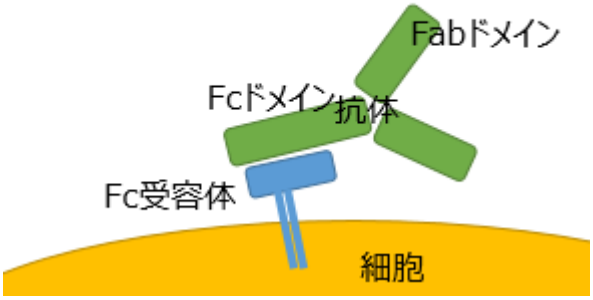
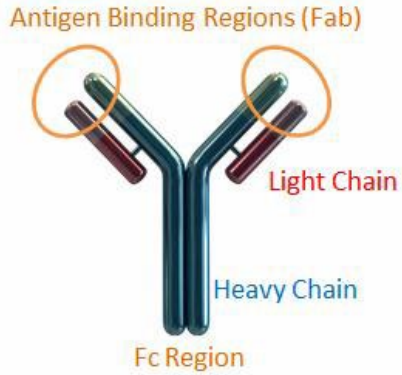
【今更聞けない、、、
抗体を使った実験で Fc 受容体を介する偽陽性って何で起こるの？】

フローサイトメトリー実験に関する、今更聞けない質問にお答えする「今更聞けない、、、」ですが、今回は、Fc 受容体を介する偽陽性に関してお話ししようと思います。

単球やマクロファージ、樹状細胞、B 細胞表面上には Fc 受容体が存在します。これらの Fc 受容体は抗体の Fc 部分を認識し貪食作用を引き起こす等、生体の細胞性免疫に深い関わりを持っています。

※余談ですが、抗体をパパインで消化すると 3 つの Fragment に分かれます（Fab が 2 つと Fc が 1 つ）。このとき抗体に結合する部分を Fragment antigen binding＝Fab、残りの冷蔵保存中に結晶化する傾向があった Fragment を Fragment crystallizable＝Fc と名付けたそうです。





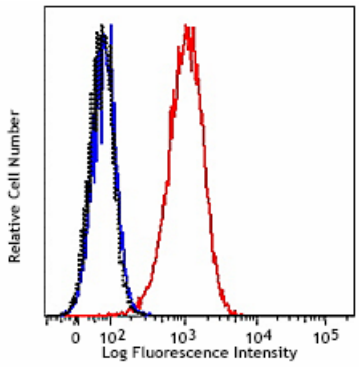
免疫作用として大切なこの Fc 受容体ですが、抗体を使う実験を行うときに、細胞上に発現している Fc 受容体と抗体 Fc ドメインが結合して、偽陽性や無意味なデータの生成につながる可能性があります。
そのため、単球やマクロファージ、樹状細胞、B 細胞など Fc 受容体を発現している細胞を使う実験では、Fc 受容体を介した偽陽性の出ないように注意して実験系を組む必要が出てきます。

☆Fc 受容体を介した非特異的結合を防ぐ方法を 2 つご紹介いたします☆

1 つ目は、Fc 受容体のブロッキング試薬を使うことです。
実験で抗体を反応させる前に細胞の Fc 受容体をブロックしてしまおう、という試薬です。
この試薬は抗体の染色前に反応させる必要があります。
Fc 受容体に対する抗体（CD16 や CD32）を使っている製品や、使用する動物種由来の IgG を使っている製品などがあります。

製品紹介：
・Human TruStain FcX™ (Fc Receptor Blocking Solution)
https://www.biolegend.com/ja-jp/products/human-trustain-fcx-fc-receptor-blocking-solution-6462
・TruStain FcX™ PLUS (anti-mouse CD16/32) Antibody
https://www.biolegend.com/ja-jp/products/trustain-fcx-plus-anti-mouse-cd16-32-antibody-17085

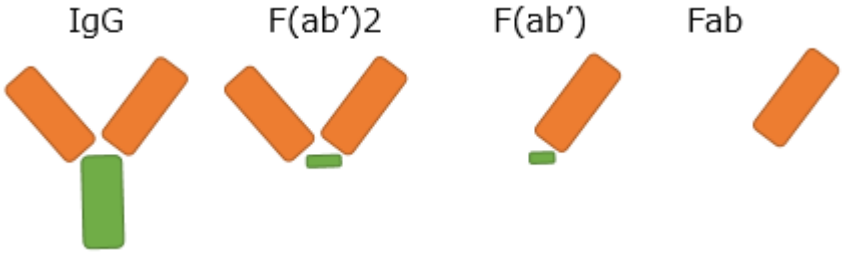
例：



ヒト細胞を Mouse IgG2a PE で染色したときの結果。
（青）：Human TruStain FcX™ で処理した細胞
（赤）：Human TruStain FcX™ で処理していない細胞
（黒）：Mouse IgG2a PE 未染色の細胞

2 つ目は、断片抗体を使うことです。

BioLegend 社では数は多くありませんが F(ab')2 抗体のご用意がございます。
抗体をペプシンで消化すると Fab ドメインが 2 つに分かれず、Fc ドメインのごく一部（ヒンジ部）が繋がった状態で残ります。ヒンジ部が含まれているため Fab と区別するために F(ab′)と呼ばれ、2 つが結合している状態であるものを F(ab′)2 といいます。



この状態の抗体は、そもそも Fc がほとんど含まれていませんので、Fc ドメインを介した非特異反応は起こりません。また分子量が小さくなることから組織切片への浸透率があがり、IHC における染色性なども向上することがあります。

ご紹介した方法以外にも、それぞれの特性を考慮して実験系を構築していただければと思います。

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページはこちら

TDB News 3.2023
トミーデジタルバイオロジー株式会社
Phone 03-6240-0843
Fax 03-6240-0461