

ELISPOTアッセイの 原理とメリット

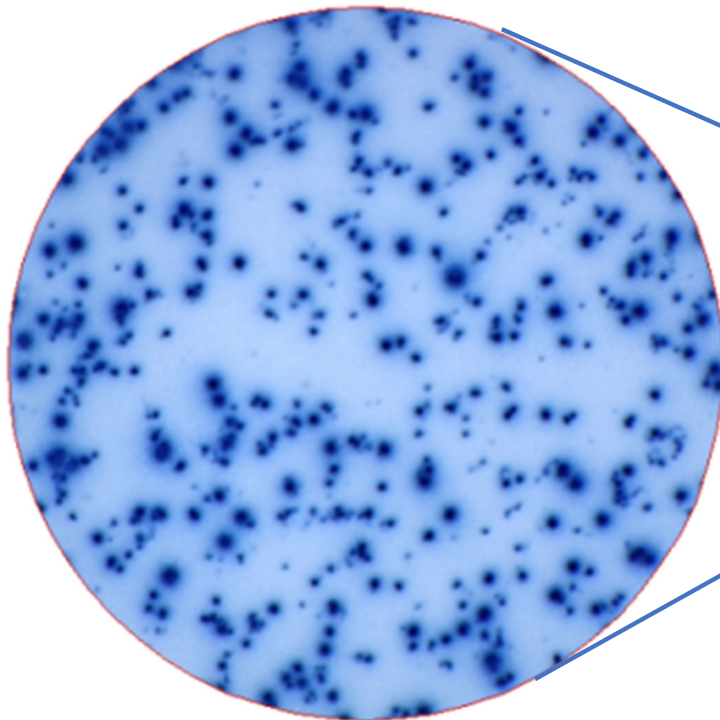


ELISPOTアッセイの 原理

ELISPOTアッセイとは？

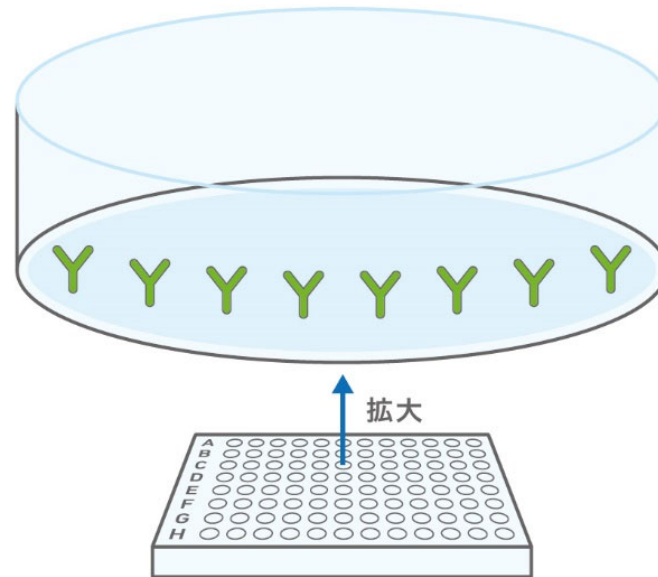
Enzyme-Linked Immunosorbent Spot

「細胞」を測定対象にしてアッセイ用プレート上で直接分泌物を捕捉し、分泌物は「スポット」として発色されます。



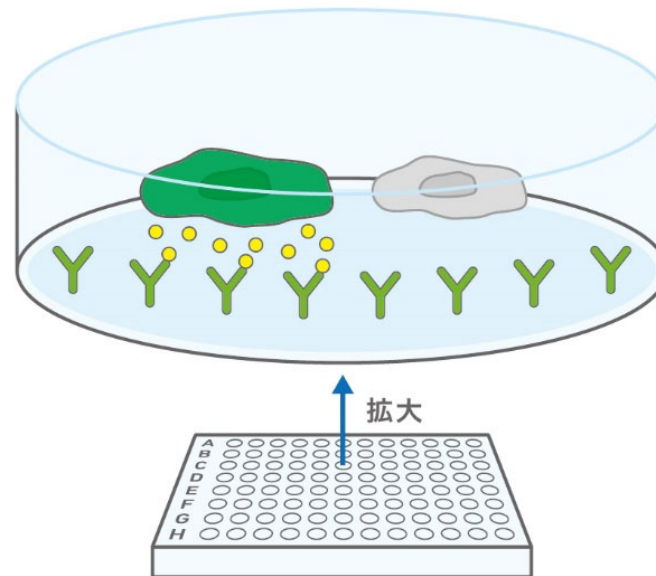
ELISPOTプレート

1. キャプチャー抗体コート



Y キャプチャー抗体

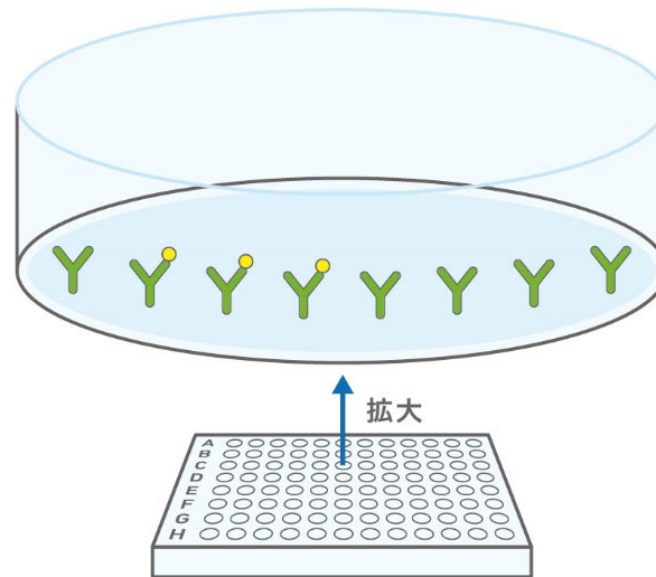
2. 細胞培養- 抗原添加



- Y キャプチャー抗体
- 分泌物（サイトカイン）

アナライト（サイトカイン）が分泌される

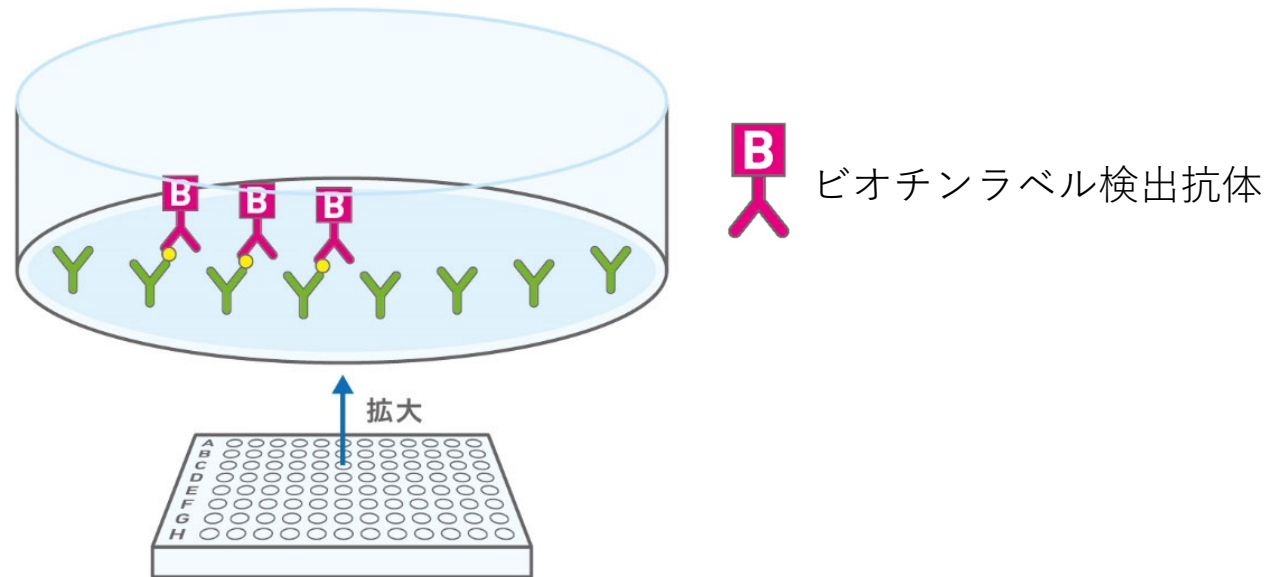
3. 細胞培養液除去



- Y キャプチャー抗体
- ● ● 分泌物 (サイトカイン)

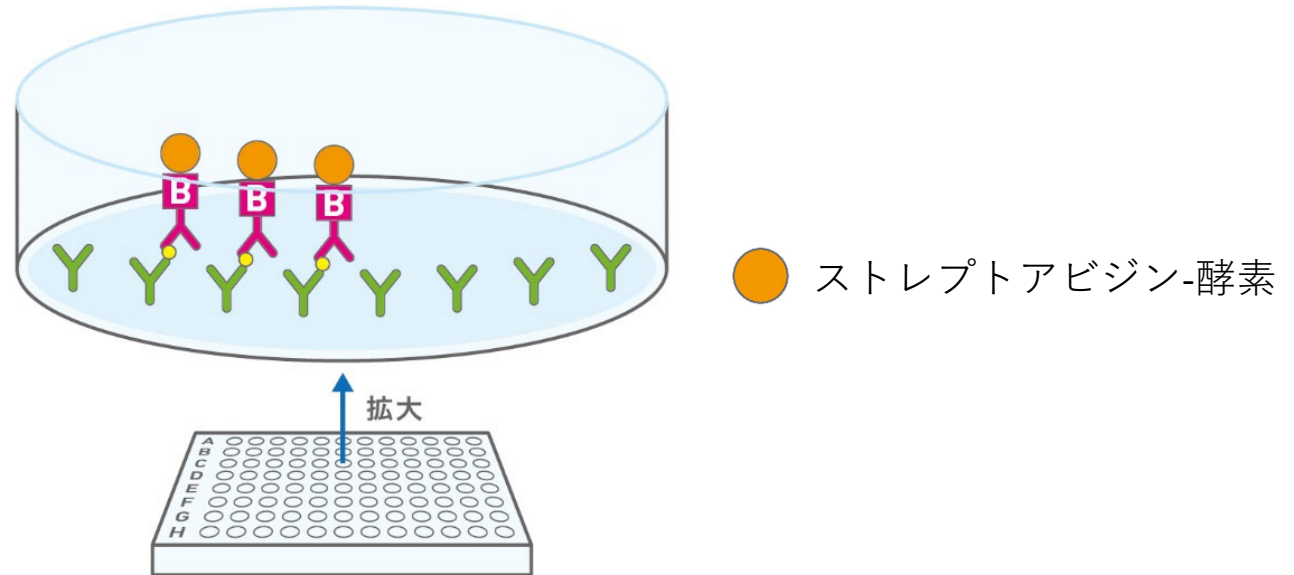
抗体にアナライトが結合

4. 検出用抗体



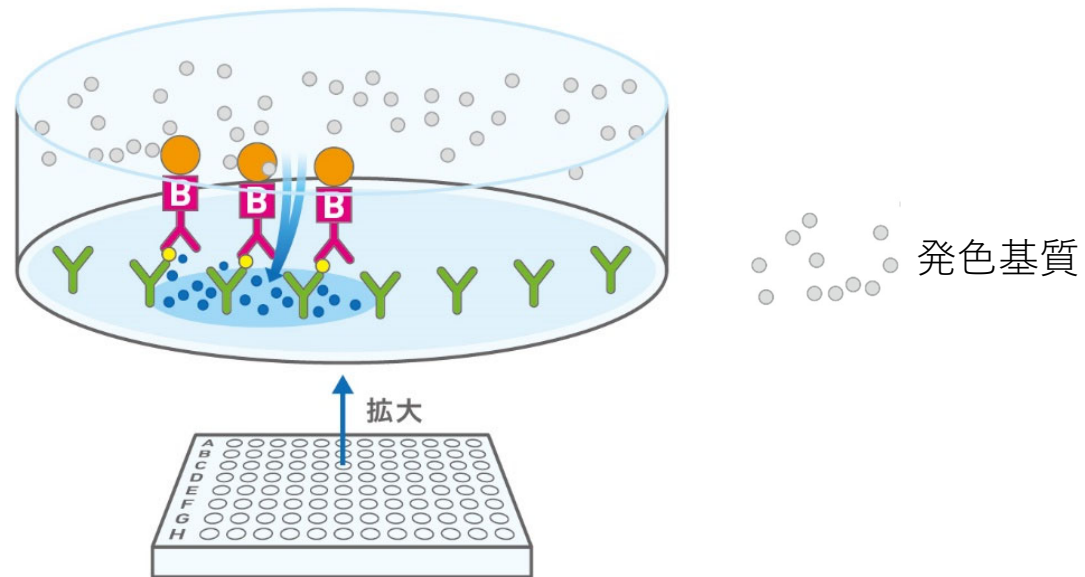
ビオチンラベルのアナライト特異的抗体が結合

5. SA-酵素



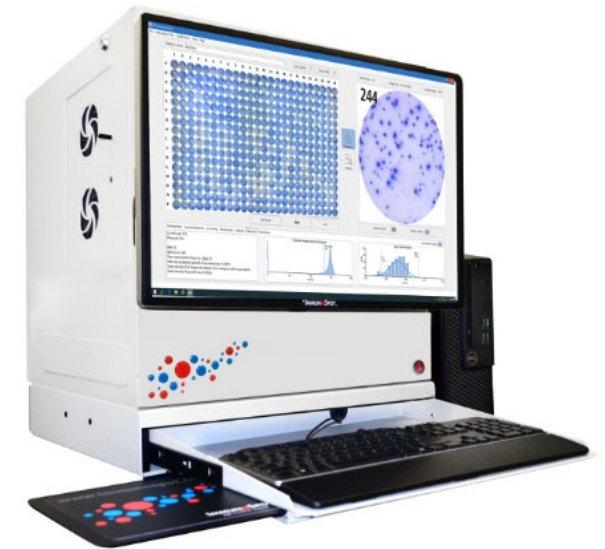
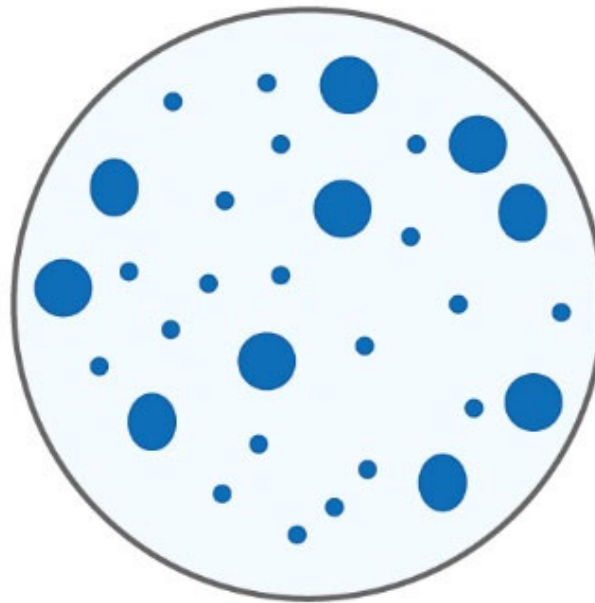
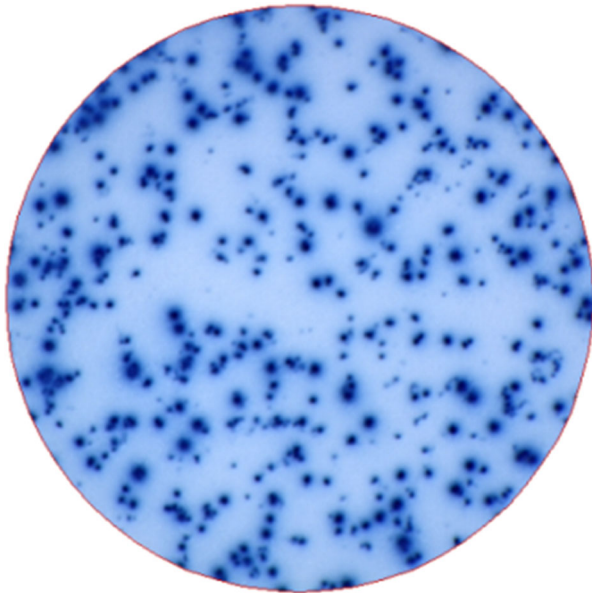
ビオチン/ストレプトアビジン反応

6. 発色基質



色素のスポットが生成される

7. スポット検出



プレートウェル底のスポットを解析する

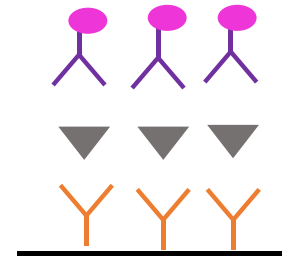
ELISPOTアッセイの アドバンテージ

ELISAと比較



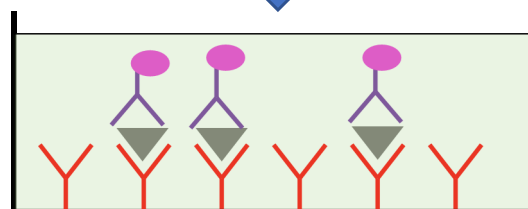
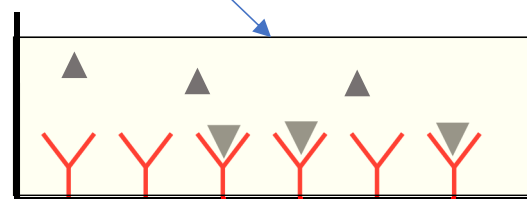
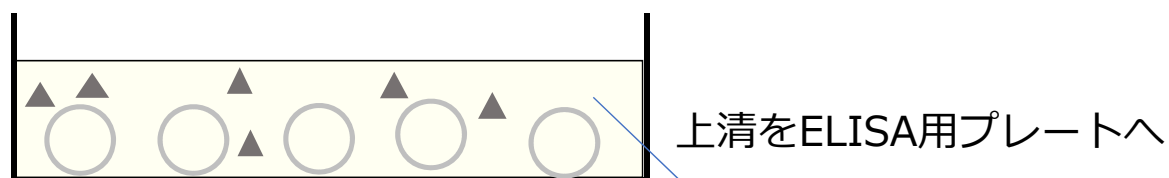
類似点

- ▶ 細胞集団から物質（サイトカイン等）が分泌されたことを測定できる
- ▶ 抗体（主にサンドイッチ法）で検出する



ELISAとの実験手法の違い

細胞から放出された物質は培養液中に**拡散**



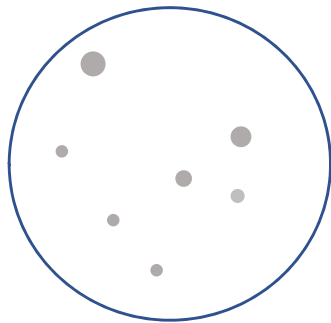
溶液全体が発色
プレートリーダーで測定

ELISA検出は

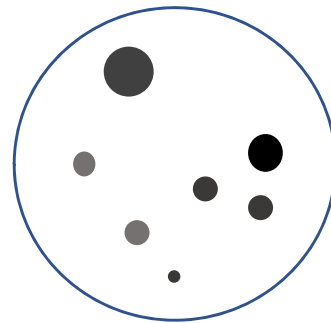
- ▶ 濃度測定が可能である
- ▶ 分解される可能性あり
- ▶ 培地中に拡散するため感度が下がる

各細胞と、細胞集団の機能がわかる

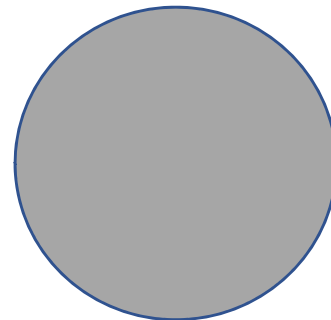
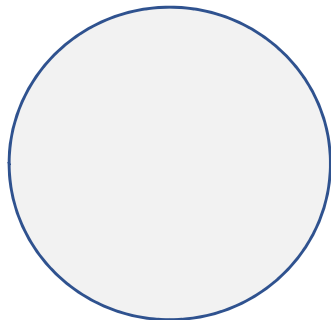
スポットサイズの増加、発色強度の増加は、免疫細胞の**機能**状態を示す。



抗原刺激無し



抗原刺激有り



ELISPOTの結果でわかること

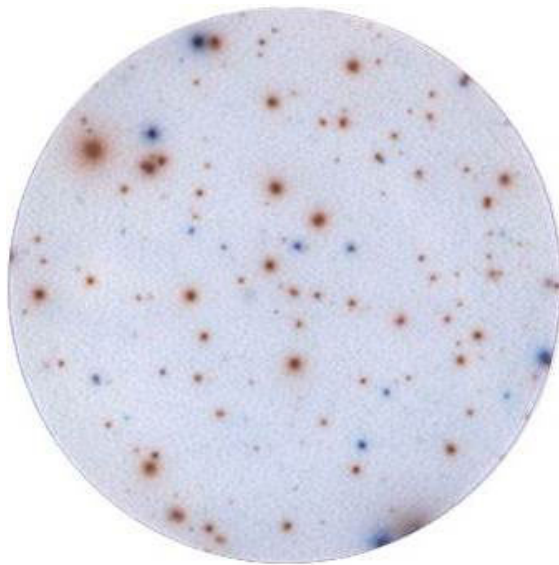
- ▶ 抗原刺激によってスポットサイズが増加
- ▶ 過去にこの抗原に遭遇したことがあり、刺激によって放出活性が高まった

ELISAでは？

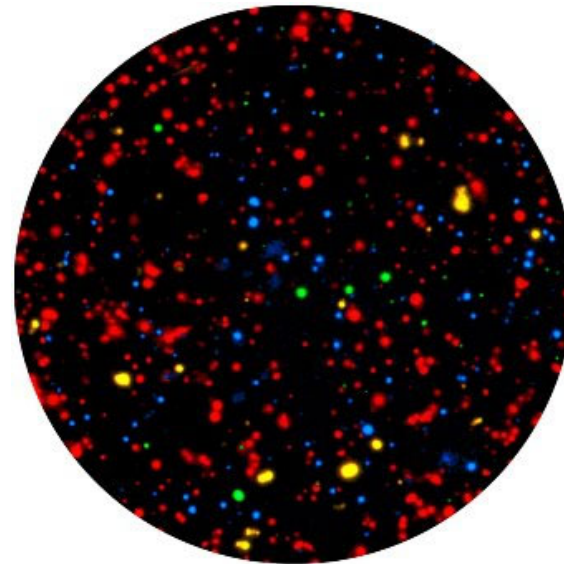
- ▶ 大量に分泌している細胞が数個なのか、少量のサイトカインを分泌している細胞が数百個なのかを判別できない

多機能性細胞の検出が可能

2色以上のマルチプレックス検出も可能

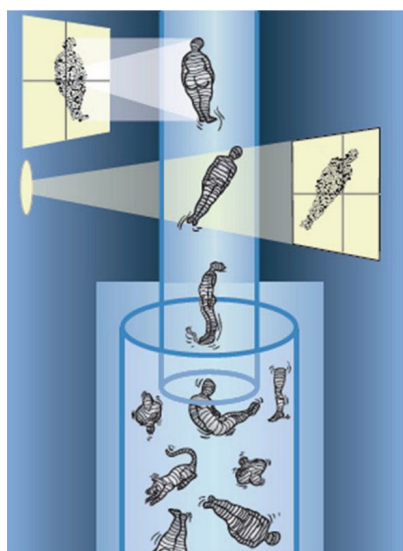


2 種類同時検出



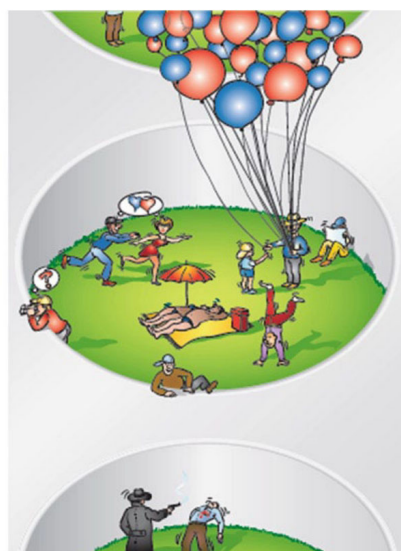
4 種類同時検出

ICS(細胞内サイトカイン染色) との違い ~ イメージ



細胞内サイトカイン染色
(ICS)

▶ 細胞からのサイトカイン分泌を止める処理と透過処理と固定（ミイラ化）を行う。



ELISPOT

▶ PBMCのような様々な血球成分を含む環境でアッセイを行い、化学的処理は不要。

ICSでは不明なもの

- ▶ 分析対象が生物学的に活性であるのか？
- ▶ 細胞内/外に保持されるのか？

- ▶ **高感度**
 - ELISA、フローサイトメトリーでは捉えられないレベルの抗原特異的細胞数の変化がわかる
- ▶ **ハイコンテンツ**
 - 存在頻度と機能を同時に検出
 - マルチプレックス解析が可能
- ▶ **ハイスループット**
 - マルチプレックス解析が可能
 - n=3でも12ドナーを1枚の96ウエルプレートで解析可能
- ▶ **低コスト**
 - ハイコンテンツ、ハイスループットなのでトータルのコストは低くなる

リンク集

初めての方はここから： ELISPOTとは	https://www.mstechno.co.jp/categories/view/640
メーカー紹介： C.T.L社 Cellular Technology Ltd.とは	https://www.mstechno.co.jp/categories/view/405
T細胞ELISPOTアッセイキットを知る	https://www.mstechno.co.jp/categories/view/85
B細胞ELISPOTアッセイキットを知る	https://www.mstechno.co.jp/categories/view/87
目当てのキットを探す、価格を調べる： 検索ページ	https://elispot.mstechno.co.jp/
ImmunoSpot解析受託サービス	https://www.mstechno.co.jp/categories/view/105