

# VALUTAZIONE CITOCHINE (a valle di stimolo Ag-specifico)

si può stimolare sia cellule mononucleate che direttamente il sangue intero MA serve usare Na-EPARINA come anticoagulante

Quando? Quando vogliamo identificare cellule specifiche per un dato Ag

Come? Stimolazione costimolazione con anti-CD28 e anti-CD

## PROCEDIMENTO

STIMOLAZIONE con Ag per 2 ore

inserimento di BREFELDINA

INCUBAZIONE con Ab specifici per il marcatore specifico ma anche con Ab specifici per marcatori di attivazione

fixing in FORMALDEIDE

permeabilizzazione con SAPONINA

MARCATURA CITOPLASMATICA con Ab specifici per le citochine di interesse

LAVAGGI sempre in saponina

ANALISI CITOFLUORIMETRICA

## Cosa consente di fare?

identificare e tipizzare la cellula specifica

valutare in modo quantitativo la cellula Ag-specifica

ottenere risultati altamente riproducibili

individuare il peptide immunologico