



Schematische weergaven van de kwantificatie van T cel activatie en cytokine productie in bloed met behulp van de intracellulaire cytokine kleuring in combinatie met de fluorescente barcoding techniek. Bloed van een patiënt wordt verdund met RPMI, verdeeld over 6 buizen en gestimuleerd met verschillende mitogene en antigene stimuli. Na incubatie worden de samples gelyseerd/gefixeerd/gepermeabiliseerd en gelabeld met verschillende concentraties Pacific Blue (PB) en Pacific Orange (PO). Hierdoor laat ieder sample een uniek fluorescent beeld zien. Vervolgens worden de samples gewassen, weer samengevoegd in 1 buis en gekleurd met fluorochroomgeconjugeerde antilichamen. Het monster wordt gemeten op de FACSCanto II en geanalyseerd voor PB en PO fluorescentie om te kunnen herleiden met welk antigeen of mitogeen de gegate cellen gestimuleerd zijn. Vervolgens wordt er gegate op CD4+ of CD8+ T cellen en worden de cellen in iedere gate geanalyseerd voor de expressie van de activatie marker CD69 en de intracellulaire productie van IL-2, IFN- γ , TNF- α en IL-4.