In vitro培養ヒト間葉系幹細胞のCD抗原発現解析

CyFlow™抗体によるシングルカラー解析

間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell, MSC)は様々な細胞への分化能を有し、再生医療の細胞ソースとして注目されています。国際細胞治療学会(International Society for Cellular Therapy, ISCT)は、In vitro培養ヒトMSC(human MSC, hMSC)の評価基準として、細胞表面抗原CD73、CD90、CD105が陽性(陽性率95%以上)、CD11bまたはCD14、CD19またはCD79α、CD34、CD45、HLA-DRが陰性(陽性率2%以下)であることなどを提案しています[1]。本アプリケーションレポートでは、フローサイトメーター RF-500とCyFlow抗体を用いたIn vitro培養hMSCに対するCD抗原のシングルカラー発現解析例をご紹介します。

結果

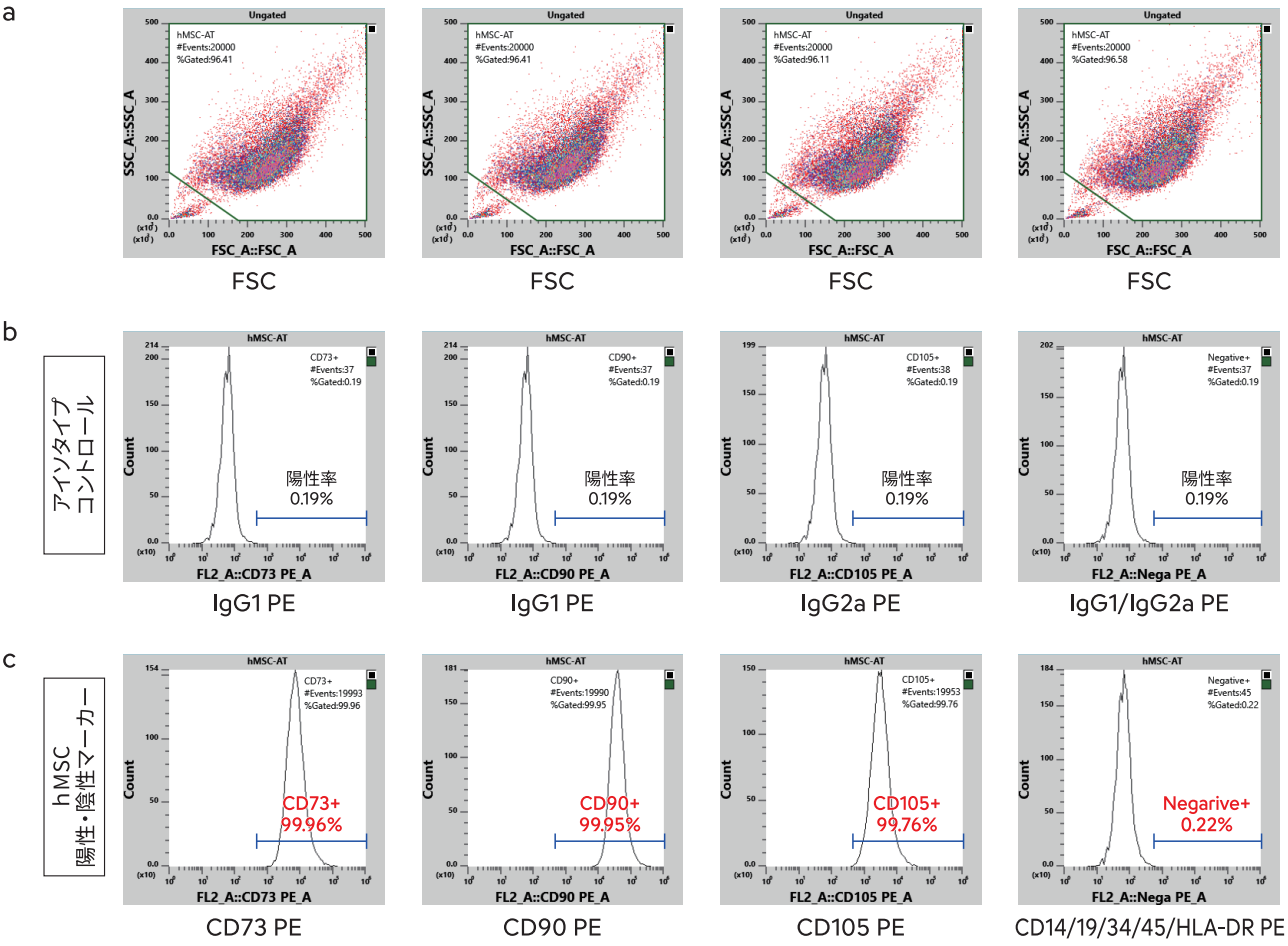


図1. RF-500とCyFlow抗体を用いたIn vitro培養脂肪組織由来hMSC(hMSC from Adipose Tissue, hMSC-AT)に対する陽性マーカー(CD73、CD90、CD105)のシングルカラー解析

a. 前方散乱光(Forward scatter, FSC)と側方散乱光(Side scatter, SSC)で展開し、バックグラウンドノイズを除いた領域にhMSC-ATゲートを設定

b. 各マーカー抗体のアイソタイプコントロールの結果を基準に陽性リージョンを設定

c. bで設定した陽性リージョンに対して各マーカー抗体の陽性率を算出

サンプル調製・測定

1. hMSC-AT継代細胞をAccutase-Solution処理により剥離・回収し、eBioscience Flow Cytometry Staining Bufferで5 x 10^6 cells/mLに調整する。
2. 7本のチューブを用意し細胞懸濁液を50 µLずつ分注する。
3. 細胞懸濁液を分注したチューブに推奨量の各抗体を加え、eBioscience Flow Cytometry Staining Bufferで総量100 µLに調製する (Tube 7は抗体量が多いため、分注した細胞を再度遠心回収する。上清を除去後、推奨量の各抗体を加え、eBioscience Flow Cytometry Staining Buffeで総量100 µLに調製する)。

Tube 1.	• CyFlow™ IgG1 PE Mouse Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-21, cat# BV655324)
Tube 2.	• CyFlow™ CD73 PE Anti-Hu (Sysmex, clone AD2, cat# BY500144)
Tube 3.	• CyFlow™ CD90 PE Anti-Hu (Sysmex, clone 5E10, cat# AF411705)
Tube 4.	• CyFlow™ IgG2a PE Mouse Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-173, cat# BY503796)
Tube 5.	• CyFlow™ CD105 PE Anti-Hu/Rt (Sysmex, clone MEM-226, cat# AL561662)
Tube 6.	• CyFlow™ IgG1 PE Mouse Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-21, cat# BV655324) • CyFlow™ IgG2a PE Mouse Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-173, cat# BY503796)
Tube 7.	• CyFlow™ CD14 PE Anti-Hu (Sysmex, clone MEM-15, cat# AK288968) • CyFlow™ CD19 PE Anti-Hu (Sysmex, clone LT19, cat# AU096347) • CyFlow™ CD34 PE Anti-Hu (Sysmex, clone 4H11[APG], cat# CM625219) • CyFlow™ CD45 PE Anti-Hu (Sysmex, clone MEM-28, cat# BE215145) • CyFlow™ HLA-DR PE Anti-Hu (Sysmex, clone L243, cat# CR971540)

4. 遮光条件下、4°Cで20分間静置する。
5. eBioscience Flow Cytometry Staining Bufferで洗浄・再懸濁し、CellTrics 30 µmフィルターでろ過後、フローサイトメーター RF-500で測定する。

試薬・機器

- Accutase-Solution, primary human cell culture tested (PromoCell, cat# C-41310)
- eBioscience Flow Cytometry Staining Buffer (Thermo Fisher Scientific, cat# 00-4222-57)
- 各抗体は上表参照
- CellTrics 30 µm(Sysmex, cat# BP486257)
- フローサイトメーターRF-500 (Sysmex, cat# BF209548)

参考文献

[1] Dominici M, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.
The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy, 8 (4), 315-317, 2006.

※ 本製品は研究用であり、診断には使用できません。

お問合せ先
シスメックス株式会社
日本・東アジア地域本部　R&I営業推進部
神　戸　神戸市西区室谷 1-3-2　〒651-2241
東　京　東京都品川区大崎 1-2-2　〒141-0032

sysmex-fcm.jp

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。
No part of this publication may be reproduced or copied without prior written permission of the publisher.
©2025 SYSMEX CORPORATION