

In vitro 培養ヒト間葉系幹細胞のCD抗原発現解析

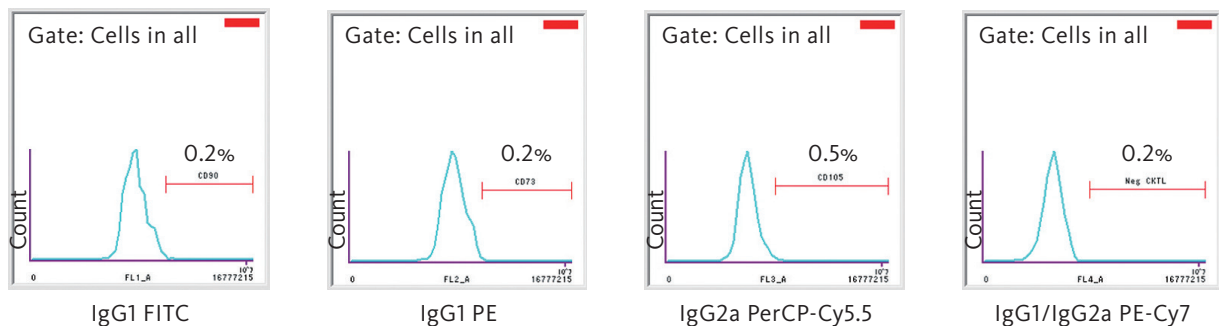
アプリケーションレポート Vol.23

間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cells, 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CD79 α 、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を用いた *in vitro* 培養hMSCの各CD抗原発現解析の例をご紹介します。

結果

ヒト骨髄由来の間葉系幹細胞 (hMSC from Bone Marrow, hMSC-BM) 継代細胞を細胞表面抗原 (陽性マーカー: CD90, CD73, CD105、陰性マーカー: CD14, CD19, CD34, CD45, HLA-DR) に対応する蛍光標識抗体で染色し、フローサイトメーターRF-500で測定しました。

Isotype Control



CD抗体

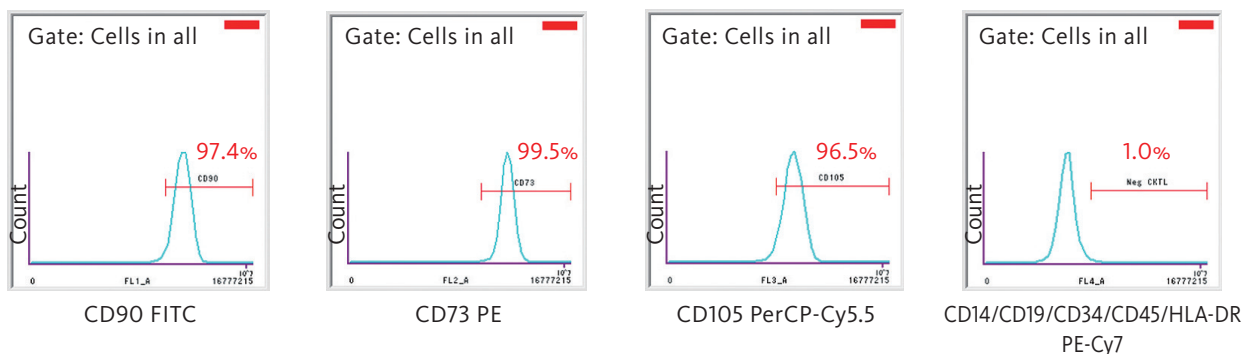


図1. RF-500を用いた *In vitro* 培養ヒト骨髄由来間葉系幹細胞における各CD抗原の発現解析
散乱光特性に基づき全細胞をゲーティング。Isotype controlの結果を基準に各CD抗体陽性リージョンを設定。

サンプル調製・測定

hMSC-BM継代細胞をトリプシン処理により剥離・回収し、PBSで洗浄・再懸濁後、下記の抗体パネルに従い、室温、暗所で15分間染色しました。その後、PBSで洗浄・再懸濁後、フローサイトメーターRF-500で測定しました。

抗体パネル

Tube 1.	Cells only
Tube 2.	CD90 FITC
Tube 3.	CD73 PE
Tube 4.	CD105 PerCP-Cy5.5
Tube 5.	IgG1 FITC Isotype Control, IgG2a PerCP-Cy5.5 Isotype Control
Tube 6.	CD90 FITC, CD105 PerCP-Cy5.5
Tube 7.	IgG1 PE Isotype Control, IgG1 PE-Cy7 Isotype Control, IgG2a PE-Cy7 Isotype Control
Tube 8.	CD73 PE, CD14/CD19/CD34/CD45/HLA-DR PE-Cy7

試薬・機器

- Anti-human CD90 FITC (Sysmex, clone 5E10, cat# CM289877)
- Anti-human CD73 PE (Sysmex, clone AD2, cat# BY500144)
- Anti-human CD105 PerCP-Cy5.5 (Sysmex, clone MEM-229, cat# AT475329)
- Anti-human CD14 PE-Cy7 (Sysmex, clone MEM-15, cat# AK184465)
- Anti-human CD19 PE-Cy7 (Sysmex, clone LT19, cat# CJ815828)
- Anti-human CD34 PE-Cy7 (Sysmex, clone 4H11[APG], cat# CU114497)
- Anti-human CD45 PE-Cy7 (Sysmex, clone MEM-28, cat# BG888853)
- Anti-human HLA-DR PE-Cy7 (Sysmex, clone L243, cat# CY019403)
- Mouse IgG1 FITC Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-21, cat# CD051682)
- Mouse IgG1 PE Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-21, cat# BV655324)
- Mouse IgG2a PerCP-Cy5.5 Isotype Control (BioLegend, clone MOPC-173, cat# 400258)
- Mouse IgG1 PE-Cy7 Isotype Control (Sysmex, clone MOPC-21, cat# CF148611)
- Mouse IgG2a PE-Cy7 Isotype Control (BioLegend, clone MOPC-173, cat# 400254)
- フローサイトメーター：RF-500 (Sysmex)

(すべて研究用機器・試薬のため診断には使用できません。)

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。

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営業部

リサーチセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241 Tel 078-992-6272 Fax 078-991-2317
東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557