

## 【RF-500】ヒト末梢血リンパ球のCD抗原発現解析

アプリケーションレポート Vol.18

末梢血リンパ球に含まれるT細胞とB細胞はそれぞれ細胞性免疫と体液性免疫を担っており、血液・免疫性疾患、アレルギー性疾患や感染症と深く関与することが示唆されています。蛍光色素で標識した抗体を用いて多重染色された末梢血サンプルをフローサイトメーターで測定することで、サンプル中に含まれる細胞の抗原発現を解析することが可能です。

T細胞は細胞性免疫を司る細胞であり、CD3の発現量が高いことが知られています。さらにT細胞は、CD4を多く発現しているヘルパーT細胞とCD8を多く発現している細胞傷害性T細胞に細分化されます。一方で、B細胞は主として体液性免疫に関与しており、CD19の発現量が高いという特徴を有しています。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を用いたヒト末梢血リンパ球のCD抗原発現解析の例をご紹介します。

### 結果

血液コントロール(CD-Chex Plus, Normal)をFc Receptor Binding Inhibitorでブロッキングした後、表面抗原(CD3, CD4, CD8, CD19)に対応する蛍光標識抗体で染色しました。EXCELLYSE Easyで溶血後、フローサイトメーター RF-500で測定を行い、各細胞群におけるCD抗原発現を評価しました。

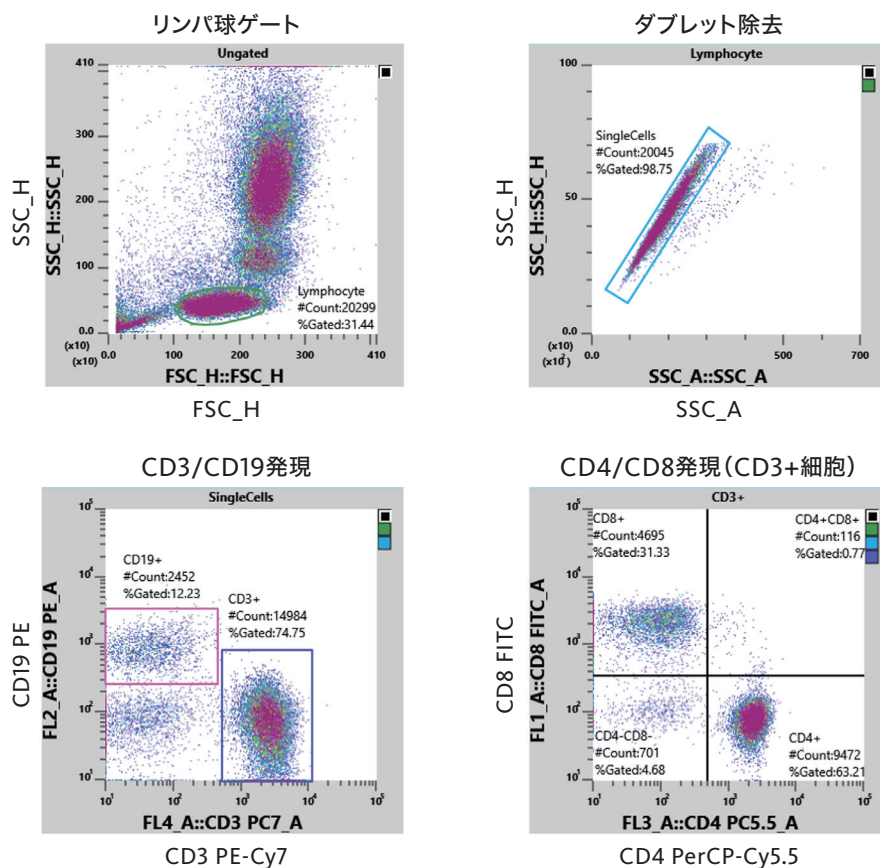


図2. RF-500を用いたヒト末梢血リンパ球のCD抗原発現解析

**サンプル調製・測定**

1. 下表の通りチューブを用意し、血液コントロール(CD-Chex Plus, Normal)を50  $\mu$ Lずつ分注する。

Tube 1.	Cells alone	
Tube 2.	PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD3	
Tube 3.	PerCP-Cy5.5 Mouse Anti-Human CD4	蛍光補正
Tube 4.	FITC Mouse Anti-Human CD8	
Tube 5.	PE Mouse Anti-Human CD19	
Tube 6.	PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD3 PerCP-Cy5.5 Mouse Anti-Human CD4 FITC Mouse Anti-Human CD8 PE Mouse Anti-Human CD19	サンプル

2. 血液コントロール(CD-Chex Plus, Normal)にHuman Fc Receptor Binding Inhibitorを2.5  $\mu$ L加え、4°Cで15分間静置し非特異的の反応をブロックする。
3. eBioscience Flow Cytometry Staining Bufferで50  $\mu$ Lに調製した推奨量の各抗体を加え、遮光条件下、4°Cで20分間静置する。
4. EXELLYSE Easyを加え、室温で10分間静置し溶血する。
5. eBioscience Flow Cytometry Staining Bufferで洗浄・再懸濁し、CellTrics 30  $\mu$ m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**

- PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD3 (BD Biosciences, clone SK7, cat# 560910)
- PerCP-Cy5.5 Mouse Anti-Human CD4 (BD Biosciences, clone SK3, cat# 566316)
- FITC Mouse Anti-Human CD8 (BD Biosciences, clone HIT8 $\alpha$ , cat# 560960)
- PE Mouse Anti-Human CD19 (BD Biosciences, clone HIB19, cat# 561741)
- Human Fc Receptor Binding Inhibitor Purified (Invitrogen, cat# 14-9161-73)
- eBioscience Flow Cytometry Staining Buffer (Invitrogen, cat# 00-4222-26)
- EXCELLYSE Easy (Exbio, cat# ED7066)
- CellTrics 30  $\mu$ m (Sysmex, cat# BP486257)
- フローサイトメーター RF-500 (Sysmex, cat# BF209548)

※ すべて研究用機器・試薬のため診断には使用できません。

※ 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。

お問い合わせ先

**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

ソリューションセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241

東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032