

MHC デキストラマーアッセイ

～フローサイトメトリーによる低アフィニティー抗原特異的 CD4+、CD8+ T 細胞検出～

MHC multimer assays: Optimized conditions allowing enumeration of low-affinity, antigen specific CD4+ and CD8+ T cells by flow cytometry

日時

11月 28日 (月) 12:50~13:50

Monday, November 28

会場

G会場 (幕張メッセ国際会議場 1 階、中会議室 104)

演者

Jørgen Schøller, CSO
Immudex, Fruebjergvej 3, 2100 Copenhagen, Denmark

共催

日本免疫学会 / コスモ・バイオ株式会社

要旨

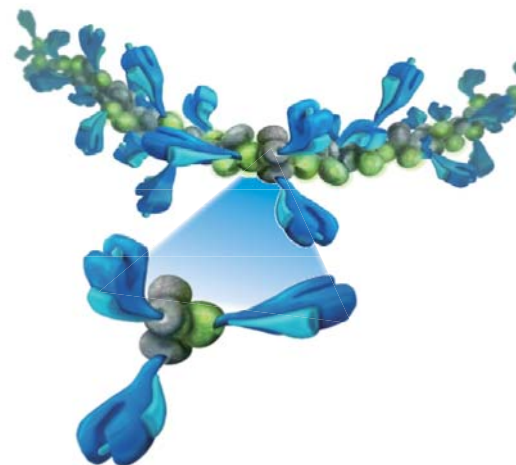
Reliable monitoring of cellular immune responses is important in vaccine and immunotherapeutic development. Flow analysis using conventional MHC multimers like Tetramers and Pentamers has made a great impact on this field, enabling enumeration and phenotypic characterization of antigen-specific T cells. However, it is often difficult to obtain well-separated, distinct negative and positive cell populations when attempting to detect T cells of low affinity for the MHC multimer.

The use of MHC Dextramers can overcome these problems, and provide reliable detection of low-affinity CD8+, CD4+ and iNKT cells. MHC Dextramers are an improved form of MHC multimers that improves staining intensity, resolution and signal-to-noise dramatically under these circumstances.

Cancer vaccines typically stimulate T cells with low affinity for the cognate pMHC class I complex. We show that MHC Dextramers, in contrast to Tetramers, can efficiently stain low-affinity T cells. Thus, using Dextramers, staining is achieved for affinities as low as 500 μ M, and effective separation of the negative and positive cell populations is achieved for affinities as low as 250 μ M.

pMHC class II complexes typically have low affinity for their cognate TCRs, making it difficult to enumerate CD4+ cells involved in e.g. autoimmune or inflammatory disease using conventional MHC multimers. We show that class II Dextramers allow detection of CD4+ T cells that cannot be detected using tetramers.

Finally, CD1d complexes (MHC-like complexes comprising glycolipids rather than peptides) often have low affinity for the TCR of iNKT cells. The use of CD1 Dextramers may be used to enumerate these cells.



本セミナーは整理券制です。

整理券発券場所

幕張メッセ国際会議場 1 階

エントランスロビー

配布時間：7:30~12:20 (11月28日セミナー当日)

「セミナー弁当引換券」発券デスク

セミナー会場：G会場



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

Immudex
IMMUNOLOGY TAKEN TO A HIGHER LEVEL



MHC デキストラマー

Immudex
IMMUNOLOGY TAKEN TO A HIGHER LEVEL

抗原特異的 T 細胞研究用ツール

デキストラマーとは

T細胞レセプター (TCR) は、特定の MHC 分子で提示される抗原特異的なペプチドを認識します。これを利用し、同じ特異性の TCR をもつ別々の T 細胞集団を検出および単離できるツールです。MHC デキストラマーは、複数の MHC と蛍光色素をもつデキストラン骨格からなります。抗原特異的 T 細胞の検出や定量が可能となりました。

特長

- ▶ **新しい蛍光標識 MHC マルチマー：**
FITC、PE、APC 標識からお選びいただけます。マルチカラーフローサイトメトリー分析にも適しています。
- ▶ **高いシグナル/ノイズ比：**
非特異的なバックグラウンド蛍光が低く、ポジティブ細胞の蛍光強度が高いクリアなデータが得られます。
- ▶ **1 分子あたりの MHC サイト数が 10 個以上：**
MHC-抗原ペプチド複合体をデキストランポリマーにより多く結合しました。
- ▶ **ヒト、マウスおよびサルの抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の動態解析に最適**

使用目的

- ▶ MHC デキストラマーは、以下のアプリケーションにおいて、CD8+T 細胞免疫応答のモニターリングに有用です。
 - **腫瘍免疫研究**
 - ・ 癌ワクチン開発
 - ・ 癌の免疫療法研究
 - ・ T 細胞リンパ腫の研究
 - ・ 固形癌 / 組織に対する T 細胞の浸潤
 - **抗ウイルス免疫応答研究**
 - ・ 幹細胞移植や免疫抑制時の免疫応答能：EBV、CMV
 - ・ ワクチンの効果検証：HIV、HTLV-I、インフルエンザ
 - **マウスの抗原特異的 T 細胞研究**
 - ・ 特異的免疫応答や自己免疫疾患
 - ・ ウイルス感染症の実験モデル
 - **毒性研究**

アプリケーション

▶ フローサイトメトリー

MHC デキストラマーは、3つの異なる蛍光色素で標識しており、フローサイトメトリーを使用し、血液、CSF またはその他体液中の CD8 ポジティブ T 細胞の免疫応答を正確にモニターリングできます。

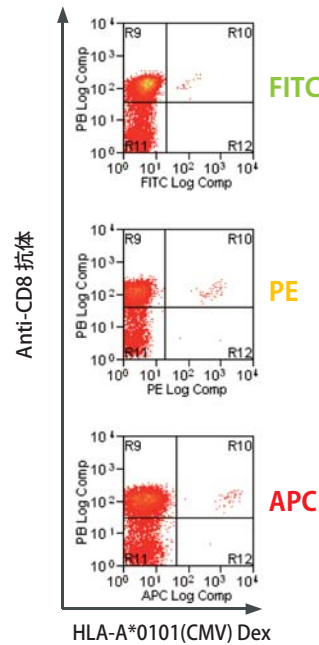


図4. フローサイトメトリー解析例
ヒト末梢血中のリンパ球を MHC デキストラマー HLA-A*0101 (VTEHDTLLY)、anti-human CD8 抗体 (PB 標識) および anti-human CD3 抗体 (APC または PE 標識) で染色し、フローサイトメトリーで解析した。MHC デキストラマーは、図に示すように FITC、PE または APC で標識されている。生きた CD3 ポジティブリンパ球が R10 ゲートに示されている。

プロトコール

1. 細胞と MHC デキストラマーを室温で 10 分間インキュベートする。
2. 抗体を加えて 20 分間インキュベート
3. 洗浄
4. 固定液を加える
5. フローサイトメトリー解析

お願い および 注意事項

- 使用範囲 … 記載の商品は全て、「研究用試薬」です。
人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

取扱店



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

- 営業部 (お問い合わせ)
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620