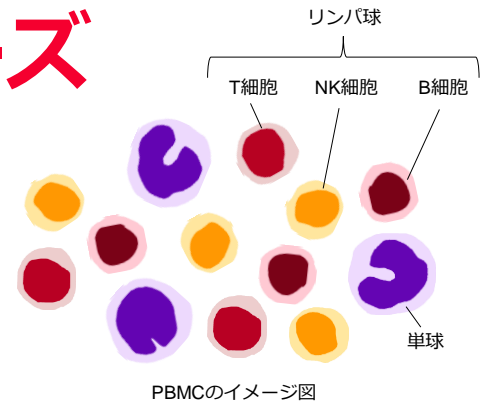


開発品 商品の仕様、外観は予告なく変更する場合があります。

Application  
note  
Vol.6

# CELLNETTA MZM1シリーズ



## PBMCからのリンパ球分画のための単球除去

### 背景

現在、ヒトの血液や組織を薬の原料とする再生医療等製品の研究が盛んに行われています。薬の原料となる特定の細胞には、他の細胞が混入しないことが望ましく、もとの血液や組織から高精度に欲しい細胞のみを取り出す方法が求められています。細胞を分ける手段として磁気ビーズ分離がありますが、細胞と抗体の反応や分離後の抗体の洗浄などの工程により、分離に時間がかかってしまいます。そこで、作業時間を短縮できるCELLNETTAをご提案します。サイズ差のある細胞であれば、CELLNETTAに細胞懸濁液を注ぐだけで、簡単に細胞をサイズ分けできます。

今回は、レグセル株式会社 研究開発部 三上 統久先生が行った、ヒトPBMCからのリンパ球分画のための単球除去にCELLNETTAを用いた事例をご紹介します。

### 実施方法

- ① ヒトPBMCをBuffer<sup>※1</sup>で $5 \times 10^6$  cells/mLとなるように細胞数を調整する。
- ② CELLNETTAを親水化処理する。<sup>※2</sup>
- ③ ①で調整した細胞懸濁液を1 mL、CELLNETTAに通す。
- ④ 通液を確認後、5 mLのBufferを通す。
- ⑤ CELLNETTAを通過した細胞懸濁液を、さらに磁気ビーズ精製し、フローサイトメトリー法で解析する<sup>※3</sup>。

※1 Bufferの調製方法 (500 mL調製の場合)

D-PBS	489 mL
FBS	10 mL (終濃度2%)
0.5 mol/L EDTA溶液	1 mL (終濃度1 mM)

※2 詳細は、CELLNETTAのユーザーガイド「親水化マニュアル」をご覧ください。

※3 磁気ビーズ精製およびフローサイトメトリー法の手順は各メーカーの操作手順書等をご参照ください。

### 結果概要

ヒトPBMCにはリンパ球と単球が多く含まれています (図1)。リンパ球は単球と比較して細胞サイズが小さいため、CELLNETTAによるサイズ分けを試みました。メッシュサイズ7  $\mu\text{m}$ のCELLNETTAでヒトPBMCを処理したところ、通液画分において単球の減少が確認できました (図1)。次に、再生医療等製品の原料として用いるT細胞の調製に適応するために、CELLNETTAまたは抗CD14抗体標識磁気ビーズによる単球除去を実施後に、CD4陽性T細胞を磁気ビーズで精製しました。その結果、CELLNETTA処理、CD14ネガティブセレクション処理ともに未処理のヒトPBMCで確認されるCD4精製後の単球混入を抑えることができました (図2)。

今回の結果から、CELLNETTAを用いることでヒトPBMCから単球の除去およびリンパ球の分画ができることが分かりました。ヒトPBMCをCELLNETTAに注ぐだけの簡便かつ短時間で完結する操作であるため、従来法と比べて作業時間を短縮でき、再生医療等製品を製造する上でのコストダウンにつながることを期待されます。

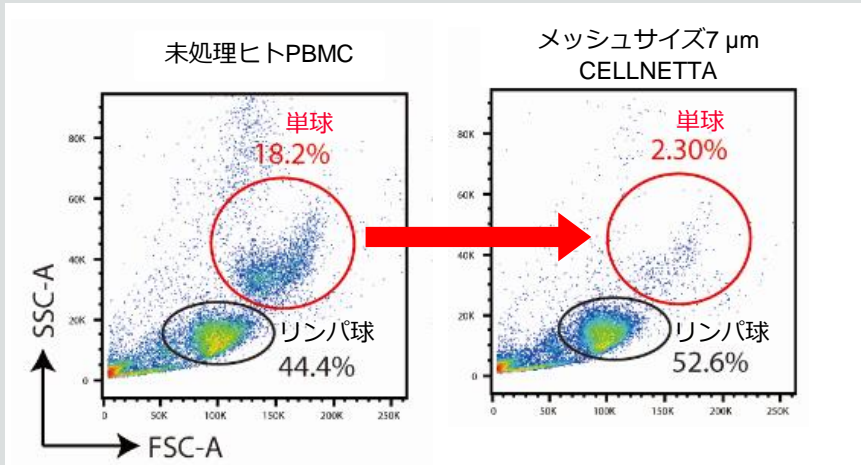
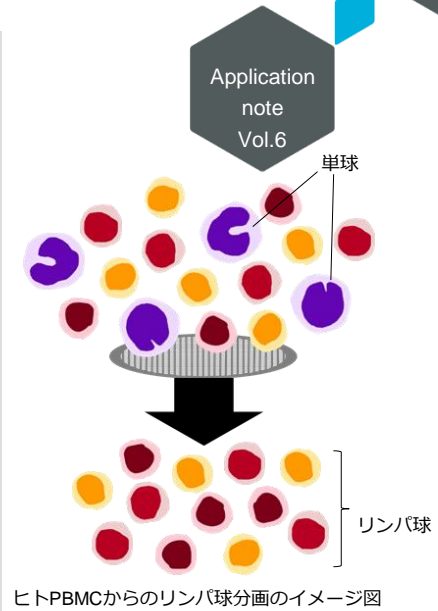


図1 フローサイトメトリー解析結果  
: CELLNETTA処理によって単球の割合が減少している。



ヒトPBMCからのリンパ球分画のイメージ図

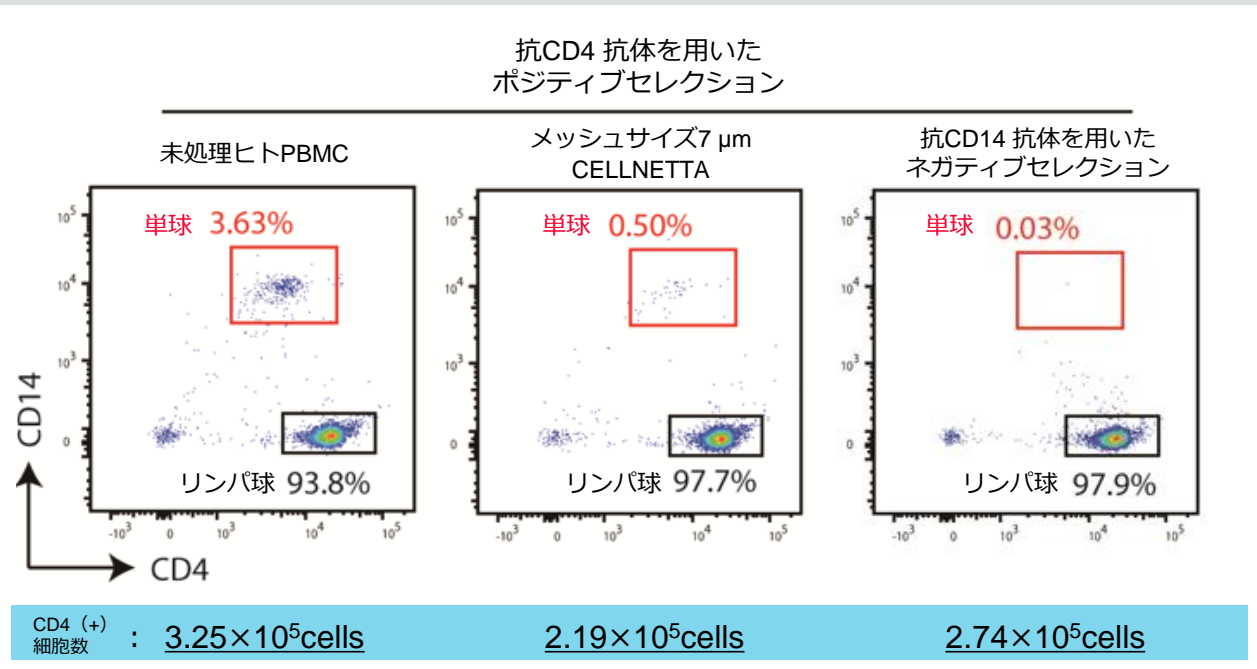


図2 CD4陽性細胞数の磁気ビーズ精製、フローサイトメトリー解析結果  
: CELLNETTA処理またはCD14ネガティブセレクション処理によって、CD4陽性細胞が回収できている。

本アプリケーションノート使用品

メッシュサイズ	ガンマ線照射	品番
7µm	有	MZM1B007B50G

注意事項

- 本製品は医療機器ではありません。
- 当製品はサンプルです。
- 当サンプルを実装した完成品を、直接市場に出さないで下さい。
- やむを得ず市場に出す場合は、当社としていかなる責任も持てません。

