

ヒトMHCテトラマー共染色時の CD8抗体 推奨クローンと染色方法

MHCテトラマーとCD8抗体を共染色する際、正しい染色結果を得るためにはCD8抗体のクローンの選択が重要です。不適切なクローンを使用した場合、CD8抗体とMHCテトラマーが干渉しあい、MHCテトラマーとTCRとの相互作用を阻害したり助長する可能性があります*。

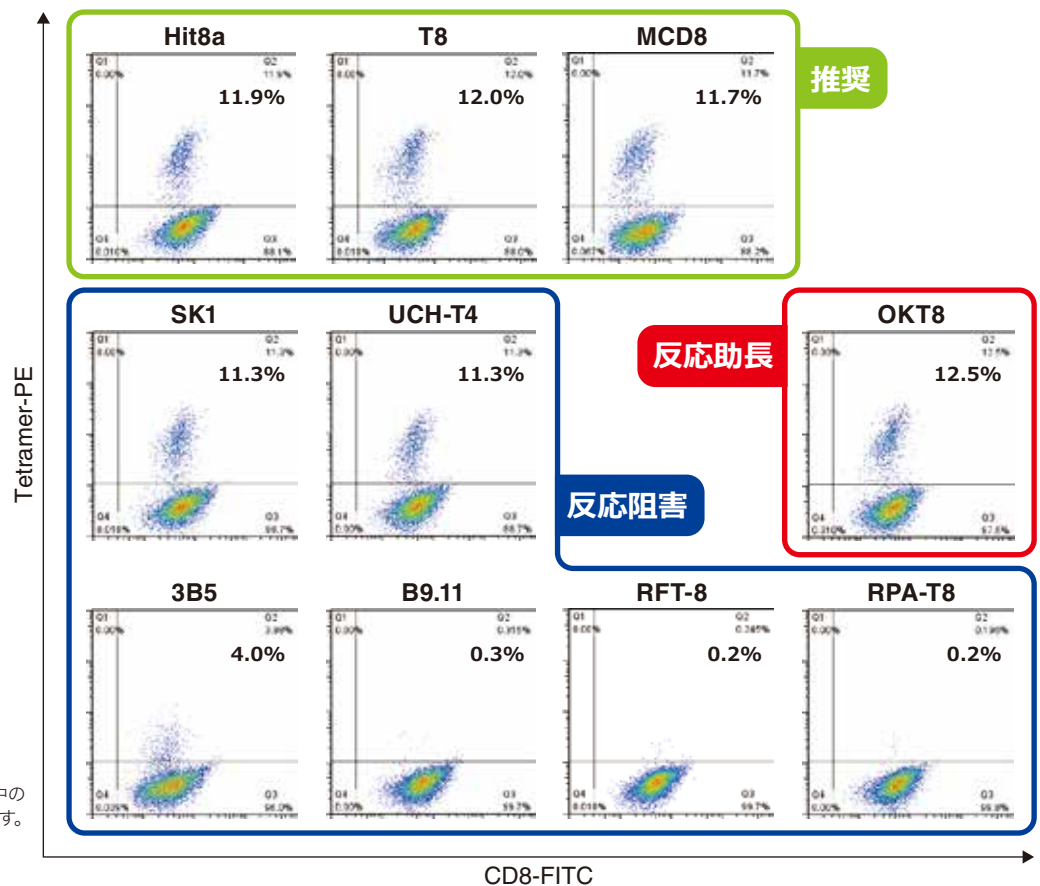
MBLのヒトMHCテトラマーをご使用になる際は、CD8抗体のクローンとしてHit8aあるいはSFCI21Thy2D3 (T8), MCD8をご使用いただくこと、また正しいプロトコールで染色いただくことを推奨しています。

CD8抗体のクローンによる 反応性の違い

弊社MHCテトラマーの反応性に対するCD8抗体の10種類のクローンの影響を調べました。クローンOKT8はMHCテトラマーとTCRとの反応を助長することが報告されています*。Hit8a, T8, MCD8以外のその他のクローンではTCRとの反応を強く阻害してしまうクローンもあることが示唆されました。

*参考文献：Campanelli R *et al.* Int Immunol. 14, 39-44 (2002)

※右上の数値は、CD8陽性細胞中の
テトラマー陽性細胞率(%)を示す。



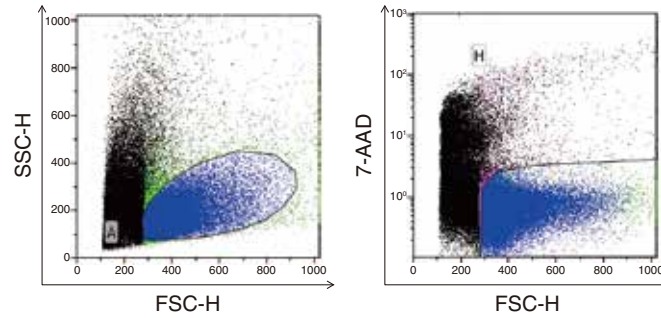
MHCテトラマーとCD8抗体の同時染色

2種類のMHCテトラマーを使用し、2つのCD8抗体クローンと共染色を行いました。

染色プロトコール

- ① 細胞を10 mL FCM Buffer [2% FCS/0.05% Na₃PBS] で洗浄
- ② 400 × g、3分間遠心し、上清を廃棄
- ③ FCM Bufferで細胞を再懸濁(1.0 × 10⁵ cells/test)
- ④ 70 μLの細胞懸濁液に10 μLのClear Back (Code No. MTG-001)を加え、室温で5分間静置
- ⑤ 10 μLのMHCテトラマーを加え、4°Cで30分間反応
- ⑥ 10 μLのCD8抗体(あるいはアイソタイプコントロール)を加え、4°Cで30分間反応
- ⑦ 1 mLのFCM Bufferで洗浄
- ⑧ 400 × g、3分間遠心し、上清を廃棄
- ⑨ 7-AADを加えたFCM Buffer (500 μL)で懸濁し、測定

ゲーティング方法



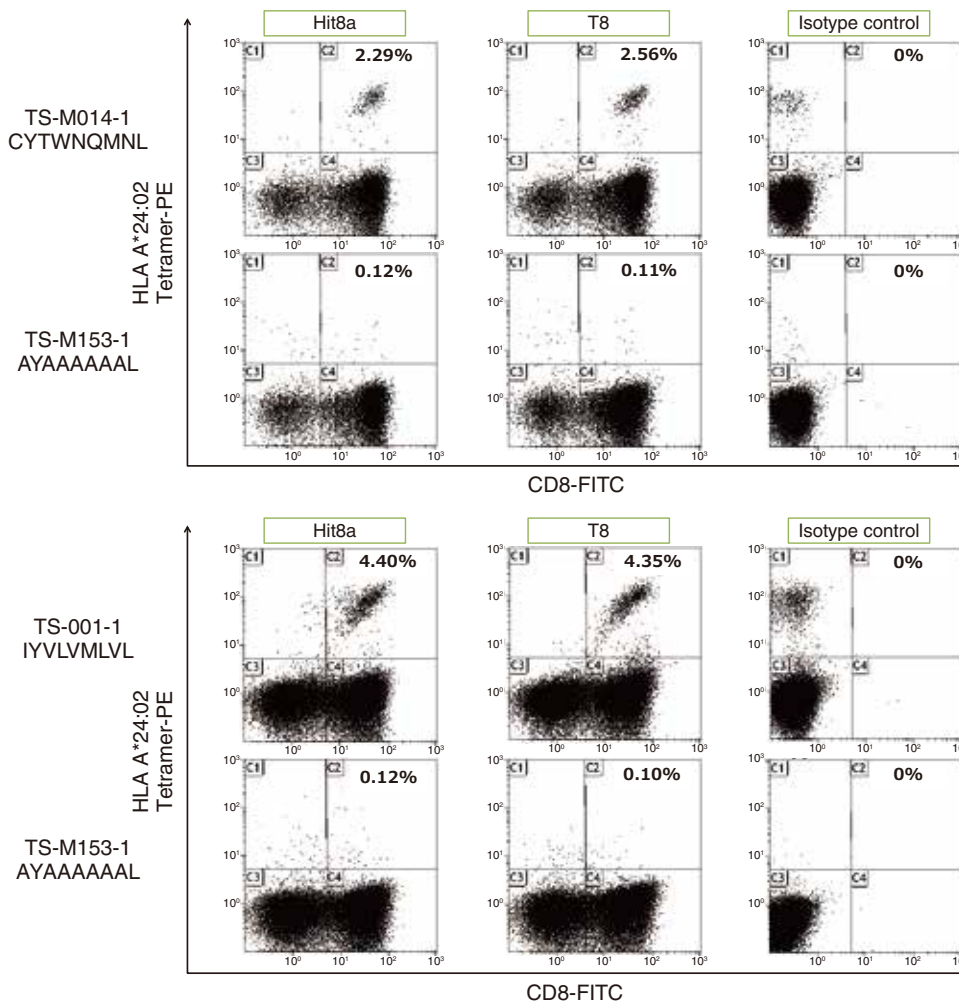
FSC/SSC展開にてリンパ球をゲーティング、かつ7-AAD陰性の細胞領域にて解析を行いました。

実験結果

MBLのMHCテトラマーとCD8抗体クローンHit8a, T8を共染色した結果、分離能良くCD8陽性かつMHCテトラマー陽性細胞を検出することができました。

MHCテトラマーとの共染色にはこちらの抗体を使用しました。

- Anti-CD8a (Human) mAb-FITC (Code No. K0226-4, clone Hit8a)
- CD8-FITC Conjugated Antibody (Beckman Coulter, clone SFC121 Thy2D3 "T8")
- Mouse IgG1 (isotype control)-FITC (Code No. M075-4)



染色例①

ポジティブテトラマー

T-Select HLA-A*24:02 modified WT1 Tetramer-CYTWNQMNL-PE (Code No. TS-M014-1)

ネガティブテトラマー

HLA-A*24:02 Control Tetramer-AYAAAAAAL-PE (Code No. TS-M153-1)

染色例②

ポジティブテトラマー

T-Select HLA-A*24:02 EBV LMP2 Tetramer-IYVLVMLVL-PE (Code No. TS-M001-1)

ネガティブテトラマー

HLA-A*24:02 Control Tetramer-AYAAAAAAL-PE (Code No. TS-M153-1)

※右上の数値は、CD8陽性細胞中のテトラマー陽性細胞率(%)を示す。

おすすめのCD8抗体はこちら↓

Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	使用法	包装	価格 (税別)
K0226-4	Anti-CD8a (Human) mAb-FITC	Hit8a	Mouse IgG1 κ	FCM	1.0 mL (100 tests)	¥32,000

MHCテトラマーの製品ラインナップはこちら

