

Stem Cell Research Source

純化幹細胞

近來的幹細胞生物學，著重在如何將幹細胞(pluripotent stem cells)應用在治療上以及更加了解幹細胞在正常以及致病的機轉為何。就現今目前所知道的，再加上對於胚胎發育、成人以及幹細胞持續不斷地研究，都有助於研究人員更加了解我們的幹細胞是如何分化成許多不同的細胞種類。因此，擁有可將不同細胞做不同分類的儀器，將有助於同源細胞群的分離以及分類。關於如何純化以及分離血球幹細胞方面，已有商業化的系統以及試劑來達成此目的。BD Bioscience，有超過25年的經驗支援幹細胞的研究，現今，BD Biosciences將提供不同於以往的成套儀器，包括流式細胞儀，多種呈色的試劑，細胞培養的耗材和用品以及生物影像系統都將有助於研究的發展。這整套的儀器結合了最先進的技術以及我們將提供世界級的服務支援研究了解幹細胞的分析，培養以及純化。

如何有效純化幹細胞？

磁珠分離 (Magnetic separation)

使用BD IMag Magnetic Cell Separation System，能夠快速且有效率地將我們所要的特定細胞族群使其純化(Positive selection)或將其他細胞族群去除(Negative selection)，對於蛋白質的分析及功能的研究都有其幫助。同時搭配延伸性使用BD Pharmingen™的單株抗體，BD IMag system將帶來合適、花費合理及有效率的分離細胞方法。

流式細胞分選 (Fluorescence activated cell sorter)

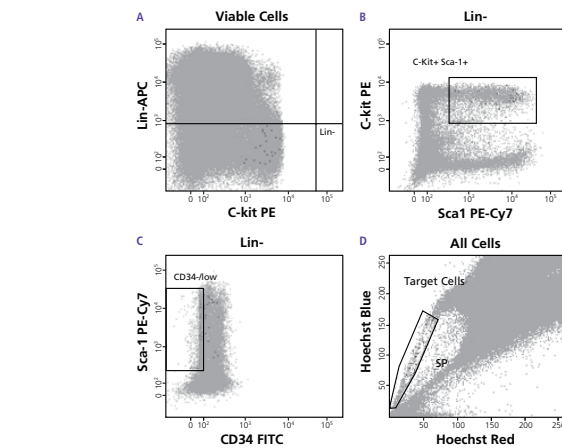
在幹細胞的研究中，關於細胞區別以及細胞未來的分化，生物標記的使用占有絕對關鍵性的地位。為了瞭解細胞是如何從這一型態轉變成另一型態的細胞，研究人員必須確實地了解並鑑定區別各種的細胞型態。而如何能夠將細胞確實地鑑別出為何種細胞，BD的流式細胞儀可快速並且正確地將細胞鑑定出來。而其中的細胞收集器，更可以將組織幾百萬的細胞中，快速地挑出非常稀少的幹細胞以供研究。除此之外，在使用流式細胞儀的過程中，我們可以同時使用不同生物標記來改變使用的參數值，藉此收集不同種類的細胞。此重要性在於我們知道有許多生物標記都可以來將幹細胞區別出來，同時，我們也可以結合不同的生物標記更準確地鑑定某些特定的幹細胞群。

舉例來說，利用BD FACSAria II Cell Sorting System可以將成鼠的造血幹細胞鑑定並大量分離。在老鼠的骨髓組織中，我們可以利用CD34⁻, c-kit⁺ (CD117), Sca-1⁺, Lin⁻ (CD34KSL) 細胞來做邊界細胞群(side population)的分析。利用流式細胞儀分析Lin⁻ (CD34KSL)同時搭配Hoechst 33342染劑，結果如右圖所示。

如何有效確認及分析幹細胞族群？

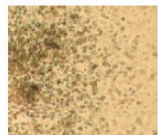
Colony forming unit (CFU) assay

幹細胞的特性在於具有增生(proliferation)、自我新生(self-renew)以及分化成特定成熟細胞(lineage differentiation)的特性；基於上述幹細胞的特性，如同前述，研究人員可以使用Colony forming unit (CFU) assay對於幹細胞進行定性及定量的分析。




- A 利用分類閘(sorting gate)將Lin-negative cells從整塊的老鼠骨髓細胞分離出來。
 B 利用Sca-1和c-kit的表現量來選出哪些是我們所要的細胞，此時所要的是Sca-1和c-kit都要有表現的細胞群。
 C 而在這群Lin-negative cells中，我們要的是CD34 negative的細胞群，所以利用CD34這生物標記來挑出我們要的細胞。
 D 由剛剛CD34⁻的細胞群中，同時用Hoechst dyes來進行染色，進一步以紅光及藍光接收訊號進行分析；而在圖上位於邊界的次細胞群，大概佔全部骨髓裡有核細胞中0.0025%，這全細胞就是我們所想要得到的造血幹細胞族群。


CFU-G



CFU-M



CFU-GM



E 為了評估我們收集到的細胞功能性如何，利用Methocult™ GF M3534 (Stem cell technology)這培養基來進行mouse colony-forming cell (CFC) assay。而我們所用的Methocult™ GF M3534培養基通常是用來培養顆粒性白血球和巨噬細胞的前期細胞。圖上就代表著colony forming units (CFUs)。

我們利用幾種抗體來進行細胞的分類：CD34 FITC (Cat. No. 560238), CD117 c-kit PE (Cat.No. 553355), LY-6 A/E Sca-1-PE-Cy7™ 7 (Cat.No. 558162) Lin- cocktail APC (Cat. No.558074)。

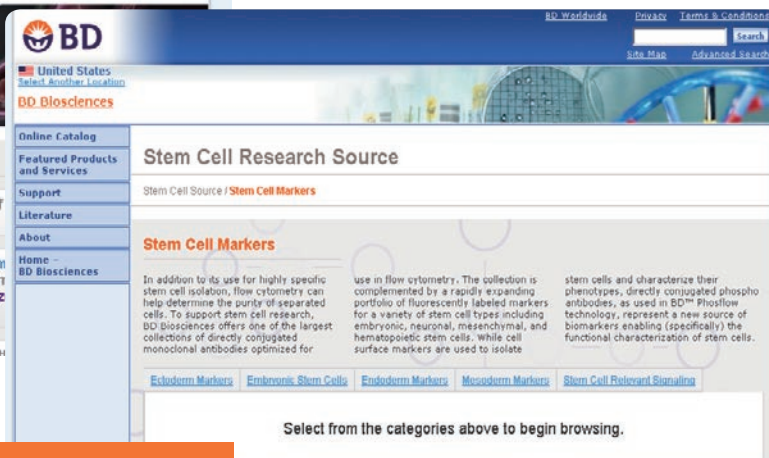
Stem Cell Research Source

幹細胞Marker資料庫

最新

更多幹細胞資訊 請上 bdbiosciences.com/stemcellsource

找尋各類幹細胞marker完整收錄

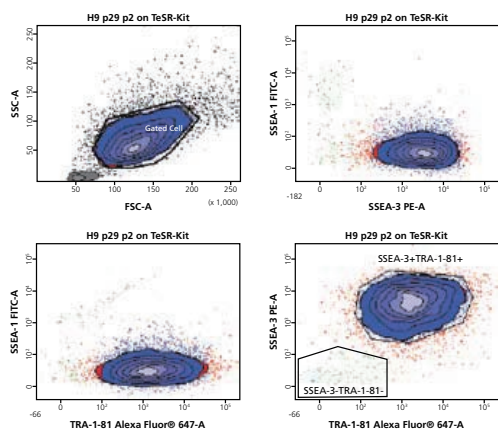


BD Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit

新品上市

BD Human Pluripotent Stem cell Sorting and Analysis Kit 對於想要分選或是定性幹細胞的研究人員一個整合性的方案，整組kit包含已調整到最佳濃度的抗體、可調整螢光補償的微球，詳細的操作說明書，更提供分析或是分

析模板(Template)，大大降低流式細胞儀用戶在分析時所遇到的不確定性，提高實驗的再現性與一致性。更棒的是，此套組採開放式設計，您可加入其他的抗體，以達到不同的實驗需求。



Analysis of H9 hESCs for expression of SSEA-3, TRA-1-81, and SSEA-1. The plot on the upper left shows the scatter plot of the cells established using BD CompBead Plus microparticles. Populations are shown as clusters defined by two markers.

特點：

多參數分析

利用散射光與螢光資訊，找到特定細胞族群。

Ready-to-Use抗體

提供Pre-titered, Pre-conjugated高品質抗體。還附有isotype control。

螢光補償免煩惱

螢光補償微球可以簡化調整儀器設定所需的時間以及檢體量

完整分析說明書與軟體模板

超詳細說明書以及預先設定好的Template，免除您分析或分選細胞時的不確定感。

開放式設計

根據不同的實驗需求，可以加入其他抗體來偵測幹細胞特有的表面分子。螢光補償微球可以以外來抗體做反應，對於不確定細胞是否會表現此分子的研究人員而言，在調整儀器設定上是有幫助。

Monoclonal Antibodies	
TRA-1-81	Alexa Fluor® 647
SSEA-1	FITC
SSEA-3	PE
Isotype Controls	
Mouse IgM, κ	Isotype Control FITC
Rat IgM, κ	Isotype Control PE
Mouse IgM, κ	Isotype Control Alexa Fluor® 647
Flow Cytometry Compensation Beads	
BD™ CompBead Plus	Negative Control
BD™ CompBead Plus	Anti-Mouse Ig, κ
BD™ CompBead Plus	Anti-Rat Ig, κ
Protocols and analysis guidelines	
Protocol for cell dissociation	
Protocol for cell staining	
Protocol for analysis, including creating BD FACSDiva™ templates	
Protocol for sorting cells, including creating BD FACSDiva templates	
Protocol for cell recovery post-sort	

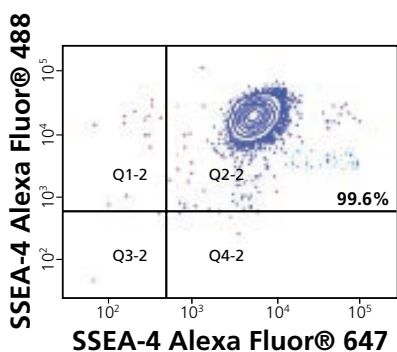
Description	Cat. No.
BD™ Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit (50 tests)	560461

Stem Cell Research Source

常見幹細胞marker

胚胎幹細胞

Embryonic Stem Cells 胚胎幹細胞 (幹細胞之王)



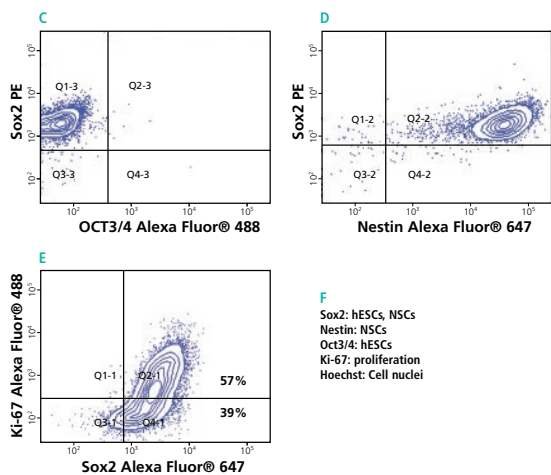
來源： 胚胎
潛能： 具有完全能力發展成一個完整生命個體所需之各式各樣不同的細胞組織

Human embryonic stem cells (H9)在 mTeSR1培養液與Matrigel™ hESC-qualified matrix 細胞間質的生長環境下，以流式細胞儀分析其細胞是否能保有原始胚胎幹細胞的型態。可以發現H9細胞表現胚胎幹細胞 marker Oct3/4和 SSEA-4

貨號	品名
560126	SSEA-4 FITC
560186	Oct3/4 PE
560127	SSEA-I FITC
560380	TRA-I-60 Antigen FITC
560194	TRA-I-81 Antigen FITC

成體幹細胞

Neural Stem Cells 神經幹細胞 (顛覆受損神經細胞不能起死回生的教條)



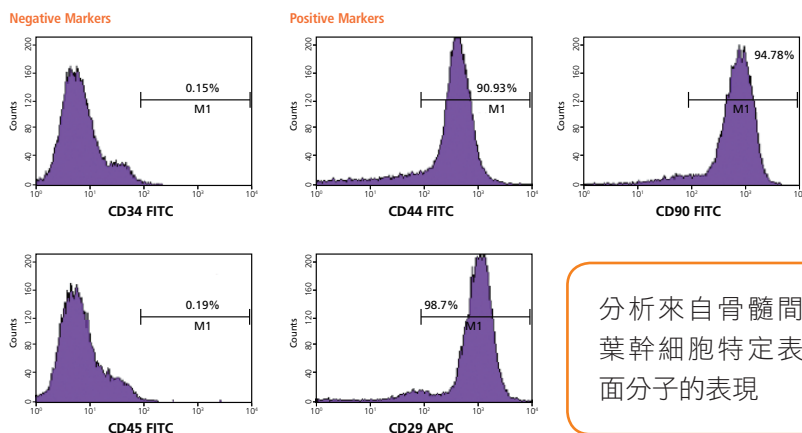
來源： 胚胎及成體中樞神經系統的室管膜下區、海馬 (hippocampus) 的齒狀回
潛能： 分化為神經元、星狀膠細胞和寡樹突細胞的能力



運用不同時期幹細胞表現出不同的表面分子，來分析胚胎幹細胞是否分化成神經幹細胞

貨號	品名
560291	Sox2 PE
560393	Nestin Alexa Fluor® 647
560399	MAP2B Alexa Fluor® 488
558616	Ki-67 Alexa Fluor® 488

Mesenchymal Stem Cells 間葉幹細胞 (為成體幹細胞最具分化潛能與自我增生的細胞)



來源： 骨髓、臍帶、脂肪組織
潛能： 成骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、神經細胞，及肝臟細胞。

分析來自骨髓間葉幹細胞特定表面分子的表現

貨號	品名
555821	CD34 FITC
555478	CD44 FITC
555595	CD90 FITC
555482	CD45 FITC
559883	CD29 APC