

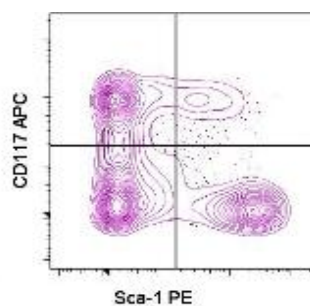
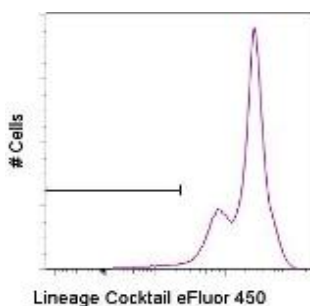
# Hematopoetické kmenové buňky

## ÚVOD

Izolace hematopoetických kmenových buněk (Hematopoietic Stem Cells = HSC) vyžaduje kvantitativní klonální techniku pro všechny typy krevních progenitorových buněk (T, B, myeloerythroidní řada) a metodu pro sort buněk založenou na jejich jedinečných expresních profilech, definovanou pomocí povrchových struktur. Pomocí tohoto přístupu je možné izolovat jak lidské tak myší kmenové buňky. Všechny buňky s fenotypem HSC v kostní dřeni dospělé myši (BM) jsou v populaci definované kompozitním fenotypem c-Kit<sup>+</sup>, Thy-1.1<sup>low</sup>, lineage marker<sup>neg</sup> a Sca-1<sup>+</sup> (označovány jsou jako KTLS). Tyto KTLS hematopoetické kmenové buňky transplantované do myší zajišťují hematopoezu po celou dobu života zvířat, včetně vytvoření stabilního „základu“ 20 až 100 tisíc HSC a denní produkce 10<sup>9</sup> krevních buněk.

## Identifikace myších hematopoetických kmenových buněk (HSC)

Buňky z kostní dřene myší kmene C57Bl/6 byly nejprve selektovány pomocí „Mouse Hematopoietic Lineage Flow Cocktail eFluor<sup>®</sup> 450“ (kat.č. 88-7772-72) obsahující:



Anti-Mouse CD3 (17A2) eFluor<sup>®</sup> 450  
Anti-Mouse CD45R (B220) (RA3-6B2) eFluor<sup>®</sup> 450  
Anti-Mouse CD11b (M1/70) eFluor<sup>®</sup> 450  
Anti-Mouse TER-119 (TER-119) eFluor<sup>®</sup> 450  
Anti-Mouse Ly-G6 (Gr-1) (RB6-8C5) eFluor<sup>®</sup> 450

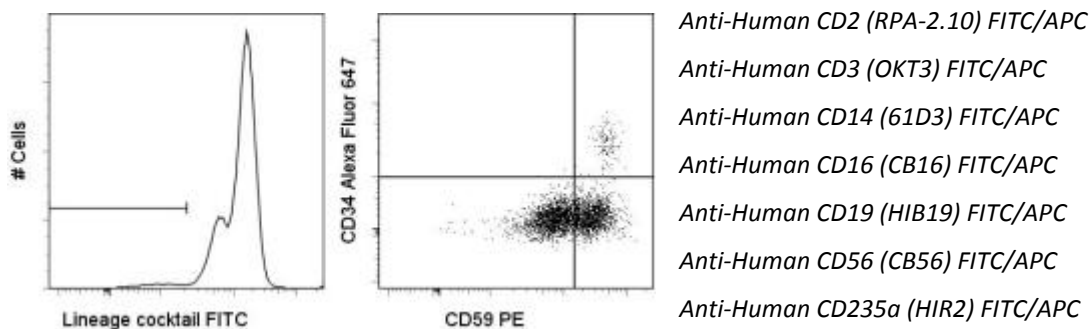
a poté charakterizovány pomocí APC

Anti-Mouse CD117 a PE Anti-Mouse Sca-1. Měřeny a charakterizovány byly pouze živé buňky.

## Identifikace lidských hematopoetických kmenových buněk (HSC)

U lidí vede izolace  $\text{lin}^{\text{neg}} / \text{CD34}^+ / \text{CD90}^+$  progenitorových buněk k izolaci homogenní HSC populace. Kritickým testem pro HSC je jejich schopnost klinicky zachránit hostitele postiženého myelo-ablací, jako následek selhání či poruchy hematopoézy a ustanovit dlouhodobou rekonstrukci pacientova těla všemi potřebnými hematopoetickými liniemi. Klinická implantace HSC do nádorových pacientů vede ke stabilizaci štěpu a zbaveného kontaminace hematopoetických buněk a rezidentních nebo metastazujících nádorových buněk. Identifikace nových znaků hematopoetických kmenových buněk umožní zlepšit účinnost purifikace HSC určených pro léčbu poruch i nemocí.

Normální lidské periferní lymfocyty byly označeny „Human Hematopoietic Lineage Cocktail“ FITC (kat. č. 22-7778) nebo APC (kat.č. 22-7776) obsahující:



a poté charakterizovány pomocí Alexa Fluor® 647 Anti-Human CD34 a PE Anti-Human CD59.

## Fenotyp hematopoetických kmenových buněk

Níže uvedené tabulky shrnují akceptované fenotypy použitelné pro izolaci lidských i myších hematopoetických buněk a vývojových mezistádií lymfoidních i myeloidních linií.

### Identifikační schémata lidských hematopoetických buněk

Name	Phenotype
Hematopoietic Stem Cell	Lin-CD34+CD38-CD90+CD45RA-
Multipotent Progenitor	Lin-CD34+CD38-CD90-CD45RA-
Common Myeloid Progenitor	Lin-CD34+CD38+IL-3RαloCD45RA-
Common Lymphoid Progenitor	Lin-CD34+CD38+CD10+

### **Identifikační schémata myších hematopoetických buněk**

označení	fenotyp	původ	výskyt
<b>Multipotentní, CD34/Flk2 linie</b>			
LT.HSC.34F.BM	CD34-Flk2-Lin-c-Kit+Sca1+	B6	BM
ST.HSC.34F.BM	CD34+Flk2-Lin-c-Kit+Sca1+	B6	BM
MPP.34F.BM	CD34+Flk2+Lin-c-Kit+Sca1+	B6	BM
<b>Multipotentní, SLAM linie</b>			
LT.HSC.SL.BM	CD150+CD48-Lin-c-Kit+Sca1+	B6	BM
ST.HSC.SL.BM	CD150-CD48-Lin-c-Kit+Sca1+	B6	BM
<b>Oligopotentní linie</b>			
CLP.BM	Flk2+IL7R $\alpha$ +c-Kit+Sca1+Lin-	B6	BM
CMP.BM	Lin-Thy1-IL7R $\alpha$ -Sca1-c-Kit+FcyRII $\alpha$ CD34+	B6	BM
MEP.BM	Lin-Thy1-IL7R $\alpha$ -Sca1-c-Kit+FcyRII $\alpha$ CD34-	B6	BM
GMP.BM	Lin-Thy1-IL7R $\alpha$ -Sca1-c-Kit+FcyRII $\beta$ CD34+	B6	BM