

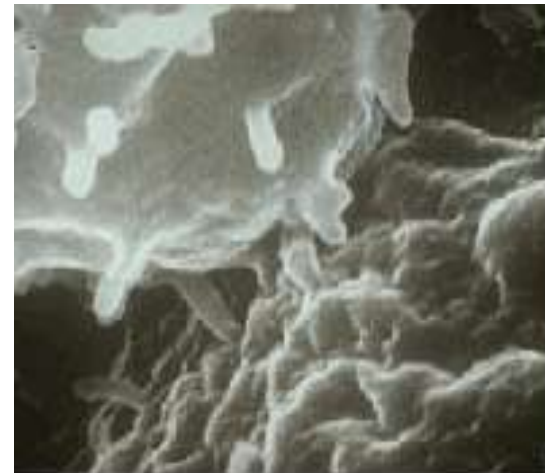
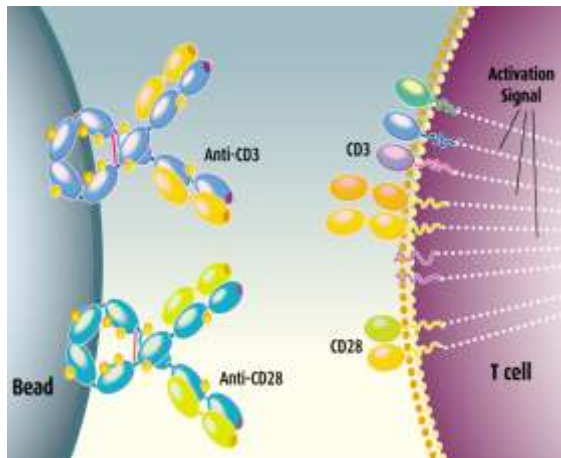


Dynabeads

T-Activator CD3/CD28

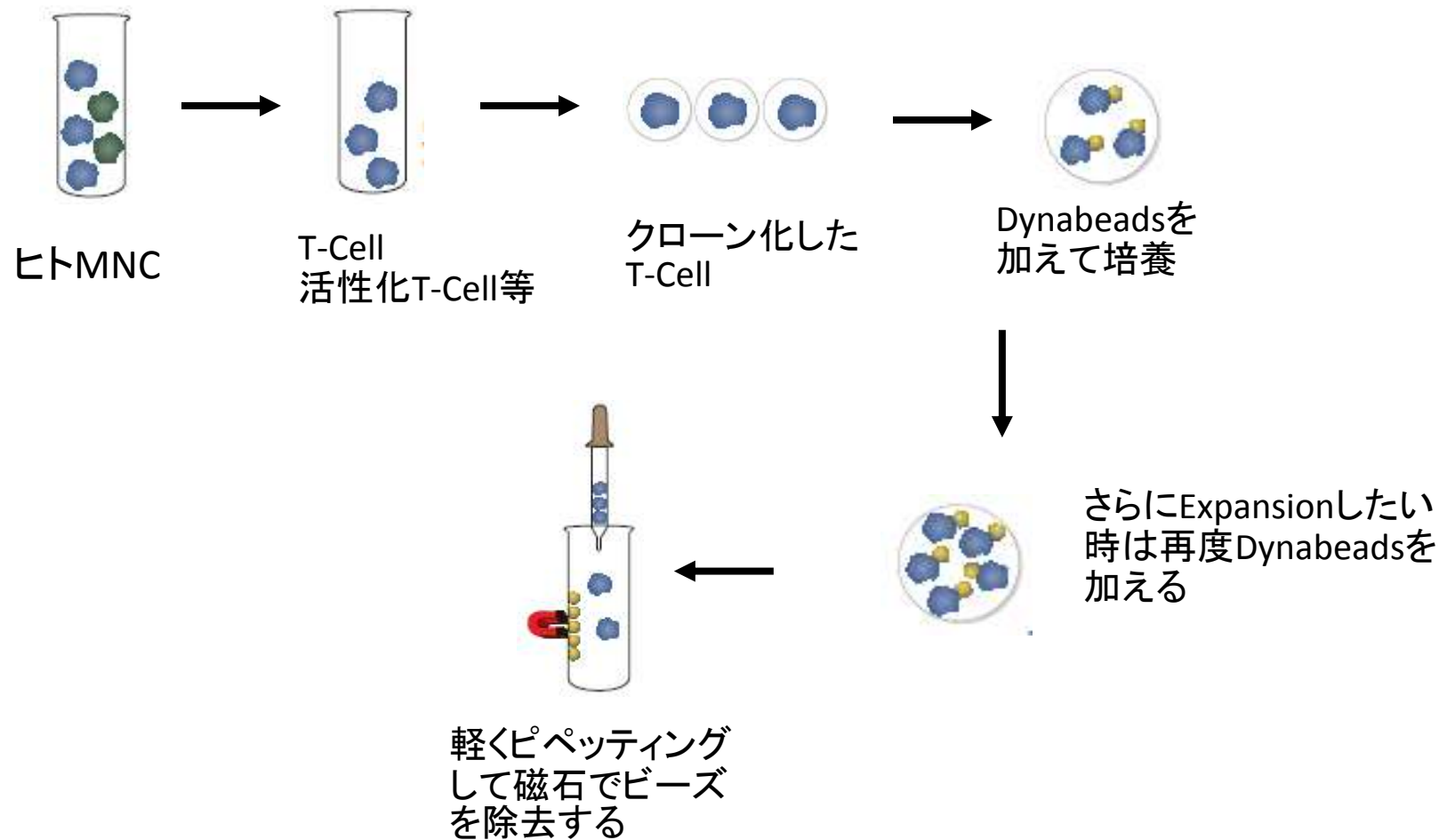
ヒト・マウス T細胞の  
活性化・増殖

# Dynabeads T-Activator CD3/CD28 とは?

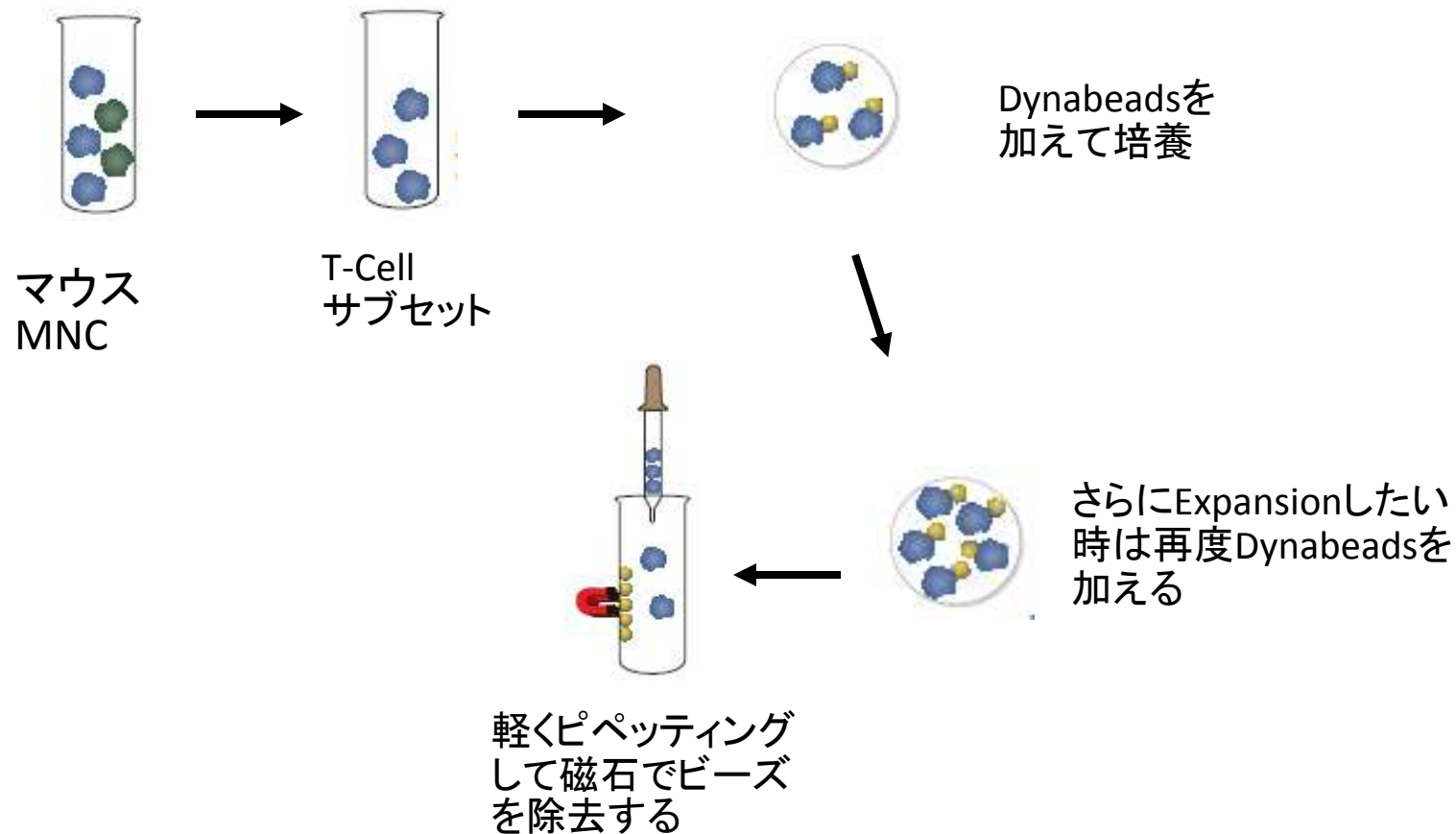


- 抗CD3と抗CD28抗体をビーズ表面に結合させた、粒径が4.5  $\mu\text{m}$ の磁気ビーズ
- 抗原提示細胞の代わりにT-Cellを刺激し活性化、増殖させる (人工的抗原提示細胞)

# 使用方法概要(ヒト)



# 使用方法概要(マウス)



# 特徴 (1)

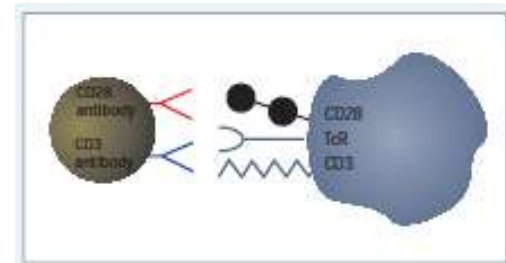
## 迅速

- 抗CD3、CD28の抗体をビーズ上に共有結合済み
- 他社ビーズのような使用時の抗体結合等の調製の手間無し
- 刺激効率を最適化
- 製造元の品質検査で増殖効率を確認済み
- 抗CD3抗体と抗CD28抗体の濃度・比率が最適化
- 長い保存期間

# 特徴 (2)

## 簡単 - Feeder layer不要

- Feeder layer、MNCのコンタミ無し
- Feeder layer、抗原提示細胞のメンテナンス不要
- 同等条件のビーズで再刺激可能



# 特徴 (3)

## 効率的 – 微量のビーズで効果有り

- Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28
  - ヒトT cell、クローン化されたT cell
  - 細胞 5-10個 → 1個のビーズ
  - $1 \times 10^6$ 個のクローン化されたT細胞 → 2.5  $\mu$ L
- Dynabeads Mouse T-Activator CD3/CD28
  - マウスT cell (脾臓・リンパ節より分離)
  - $1 \times 10^6$ 個のT細胞 → 10  $\mu$ L
  - CTLA4を介したNegativeな刺激無し

# 特徴 (4)

## 簡単

ビーズと細胞の結合がピペティングで簡単に分離可能



増殖した細胞はビーズ抗体フリー

磁石で分離したビーズを回収

### 商品ラインナップ

製品	対象
Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28	ヒト用
Dynabeads Mouse T-Activator CD3/CD28	マウス用





# 増幅効率(ヒト)

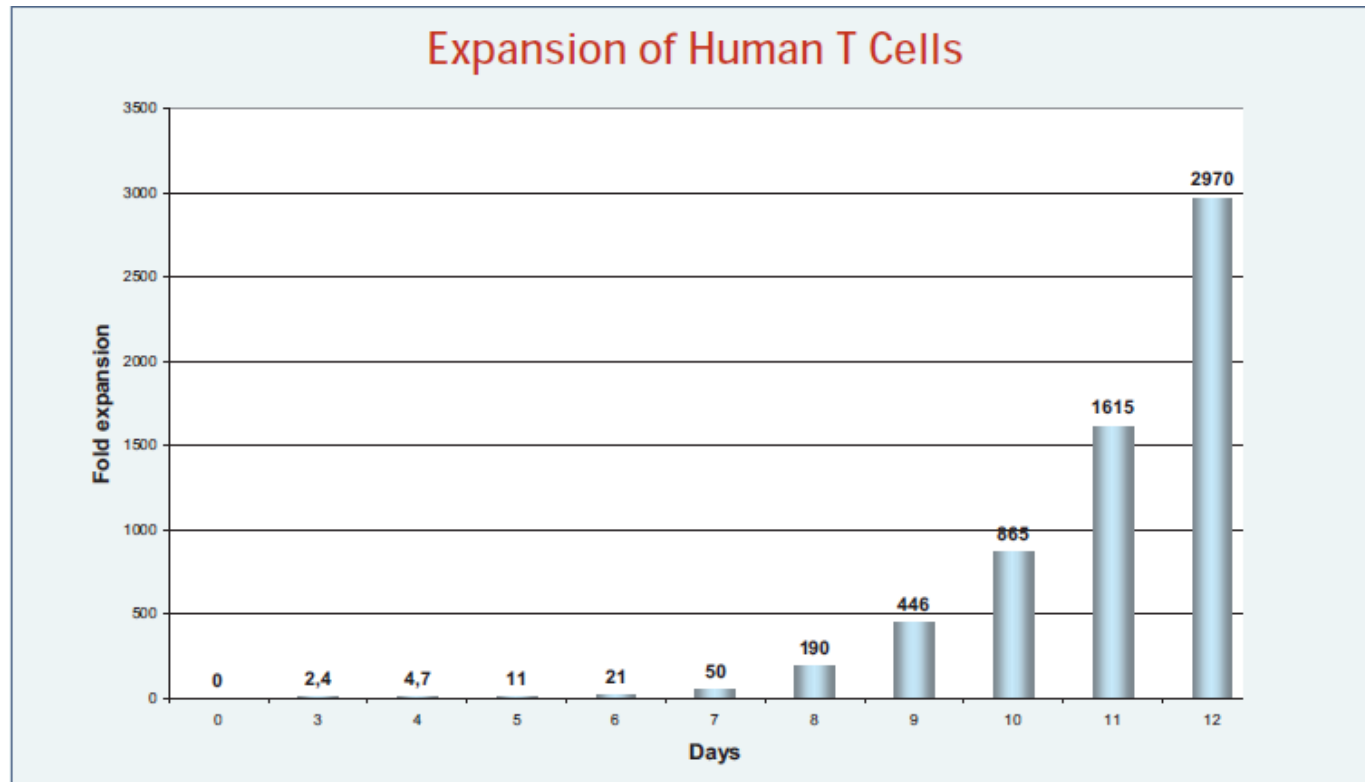
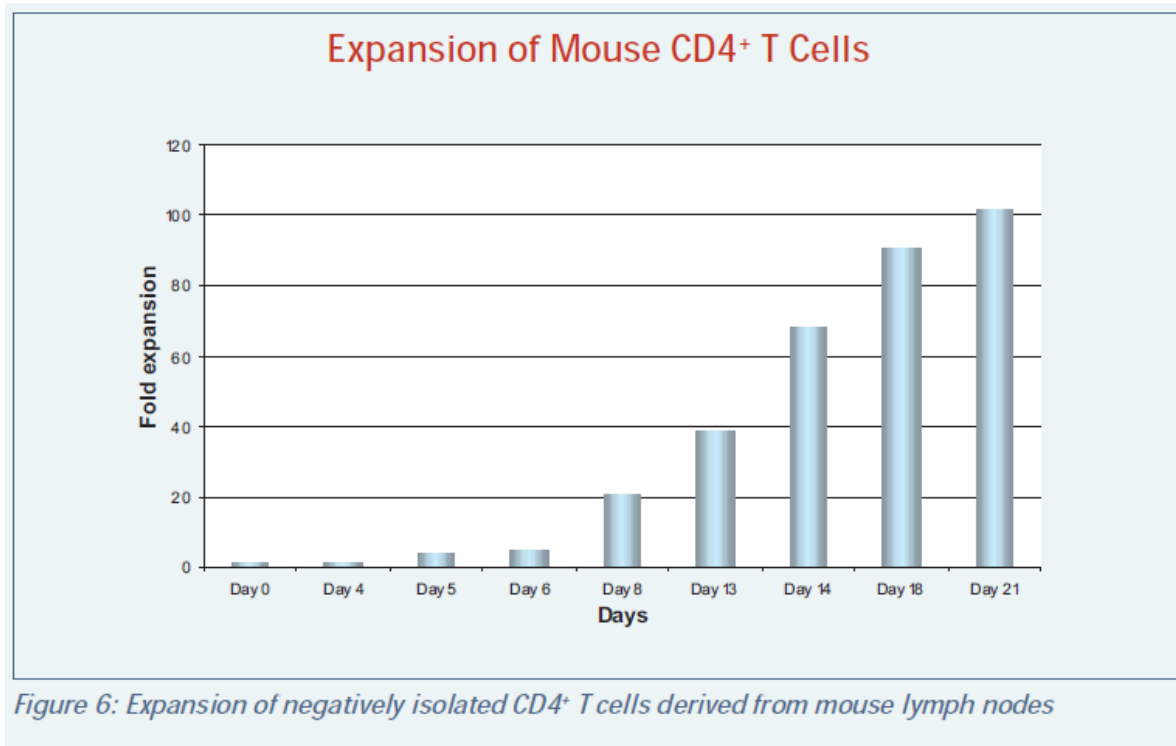


Figure 3: Expansion of human naïve T cells with Dynabeads® CD3/CD28 T Cell Expander

ヒトNaïve T cell では12日で**3,000倍**にExpand

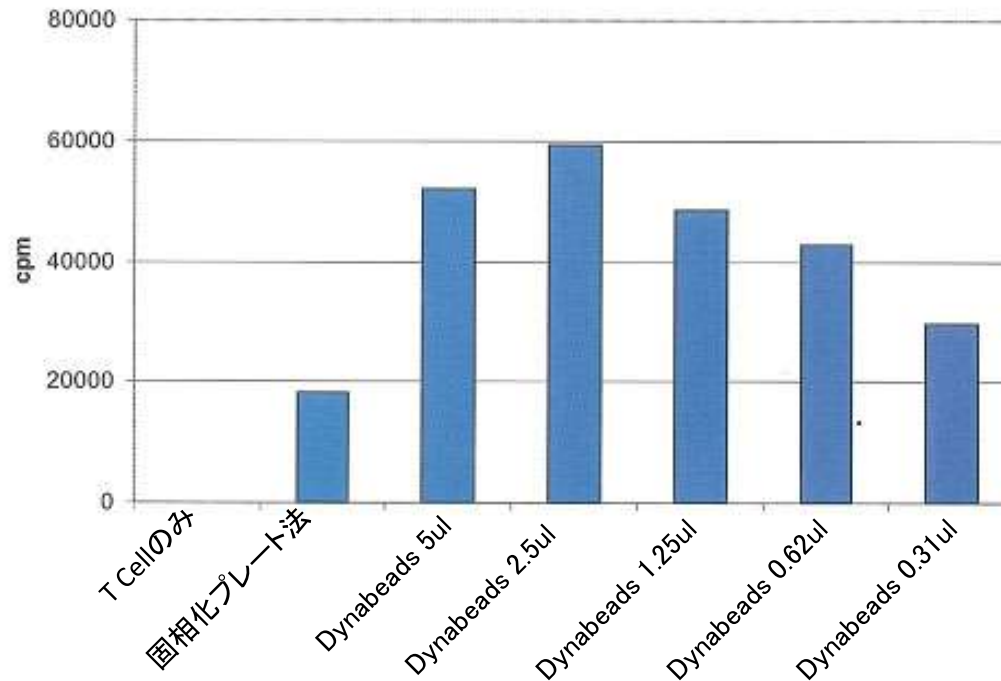
# 増幅効率(マウス)



増幅の難しいマウスCD4<sup>+</sup>T細胞の例でも  
3週間で約100倍にExpand  
(最適化する事でさらにExpansion可能)

# 固相化プレートとの比較

CD3/CD28モノクローナル抗体の固層化プレート  
vs Dynabeads T-Activator CD3/CD28

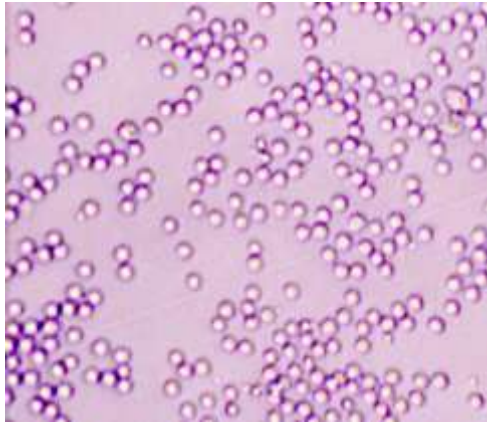


CD3/CD28抗体を固相化したプレートとIL-2で増殖させる従来法に比べ高効率でExpansionが可能

# 活性化後の細胞形態比較

刺激後48時間の細胞形態変化をDynabeadsと他社T細胞刺激用ビーズとで比較した

コントロール



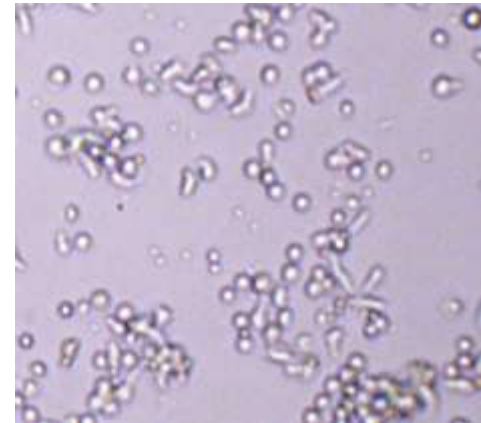
休止状態

Dynabeads



分裂しかけている  
細胞を観察

他社ビーズ



効率が最適化されてい  
ない

**Dynabeadsを使用した場合  
刺激後48時間で分裂前の細胞形態が観察された**

# T細胞活性化能の比較

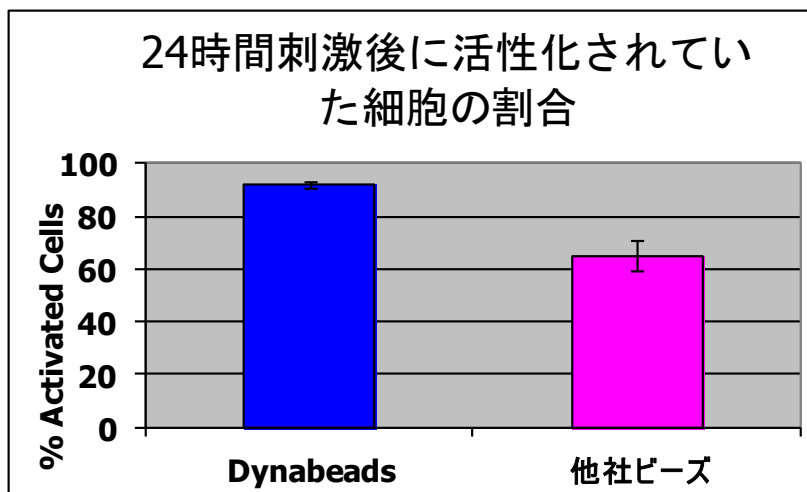
Dynabeads®  
CD4細胞を分離



DB CD3/CD28  
もしくは  
他社ビーズで刺激



フローサイトメトリー  
でCD25とCD69の  
発現を解析



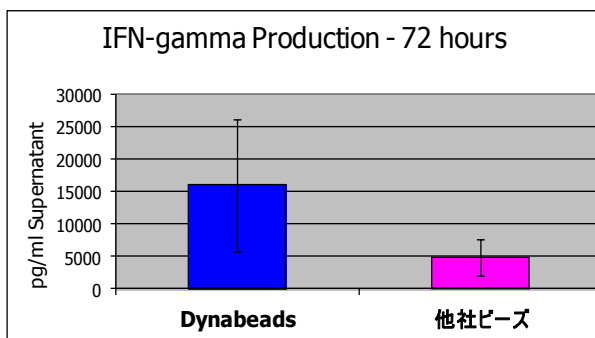
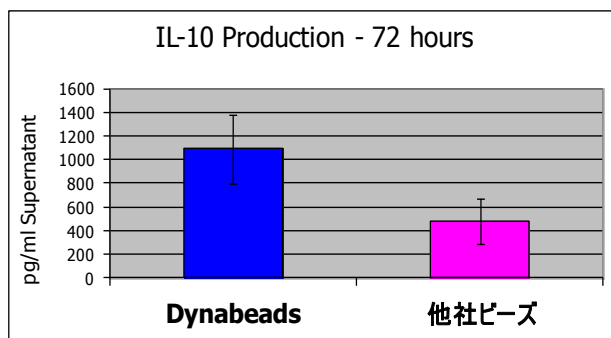
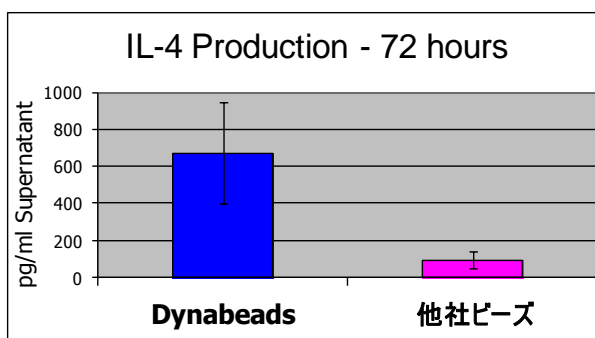
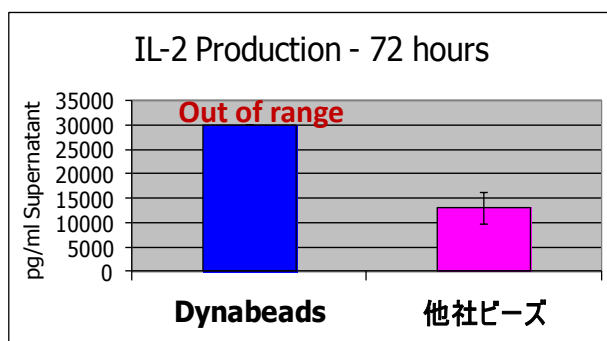
**Dynabeadsで優れた活性化効率**

# サイトカイン産生能の比較

Dynabeads<sup>®</sup>  
CD4細胞を分離

DB CD3/CD28  
もしくは  
他社ビーズで刺激

上清を回収し  
サイトカイン  
産性能を解析



**Dynabeadsで優れたサイトカイン産性能**

# References

1. Trickett A *et al* (2003) T cell stimulation using anti CD3/CD28 beads. *J.Imm. Methods* **275**:251-255
2. Garlie N *et al* (1999) T cells coactivated with immobilised anti-CD3 and anti-CD28 as potential immunotherapy for cancer. *J.Immunotherapy* **22**(4):336-345
3. Ito F *et al* (2003) Anti-tumour reactivity of anti-CD3/anti-CD28 beadactivated lymphoid cells: implications for cell therapy in a murine model. *J.Immunotherapy* **26**(3):222-233
4. Greenfield EA *et al* (1998) CD28/B7 Co-stimulation: A review. *Crit. Rev. Immunology* **18**:389-418
5. Appleman LJ and Boussiotis VA (2003) T cell anergy and co-stimulation. *Immunol. Rev.* **192**:161-180