

あらゆる細胞をビーズフリーの状態でも回収

**Dynabeads<sup>®</sup> FlowComp<sup>™</sup> Flexi**

---

株式会社ベリタス



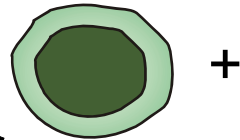
# Dynabeads FlowCompの特徴

- ポジティブ分離で高純度
- 分離後の細胞からビーズをはずせるのでビーズのついていない細胞が得られる
- ビーズのついていない細胞はフローサイトでの解析をはじめ、あらゆるアプリケーションに使用可能
- 細胞とビーズが最小限のインタラクションしか起こさないなので細胞への影響が少ない
- ポリマーコートされたビーズは安定で酸化鉄のリークやビーズの分解がおこらないので、viabilityが向上
- カラムが不要なので使いやすく経済的
- Mouse脾臓やリンパ節など組織片の多いカラムに詰まりやすいサンプルでもバラツキのない高純度の細胞を回収

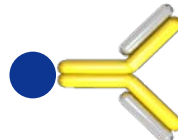
# FlowCompの基本原理

改良ビオチン標識抗体

抗体が特異的な細胞に結合



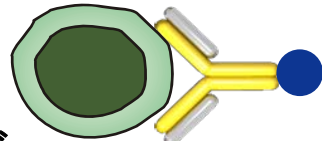
+



DSB-X biotinで抗体をラベル



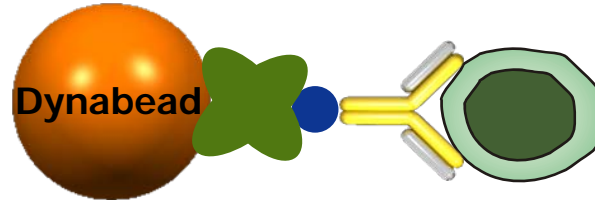
改良ストレプトアビジン結合ビーズ



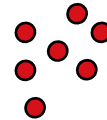
+



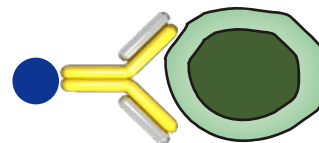
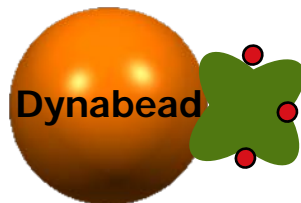
改良ストレプトアビジンビーズが  
ビオチン - 細胞複合体に結合



release buffer を加える

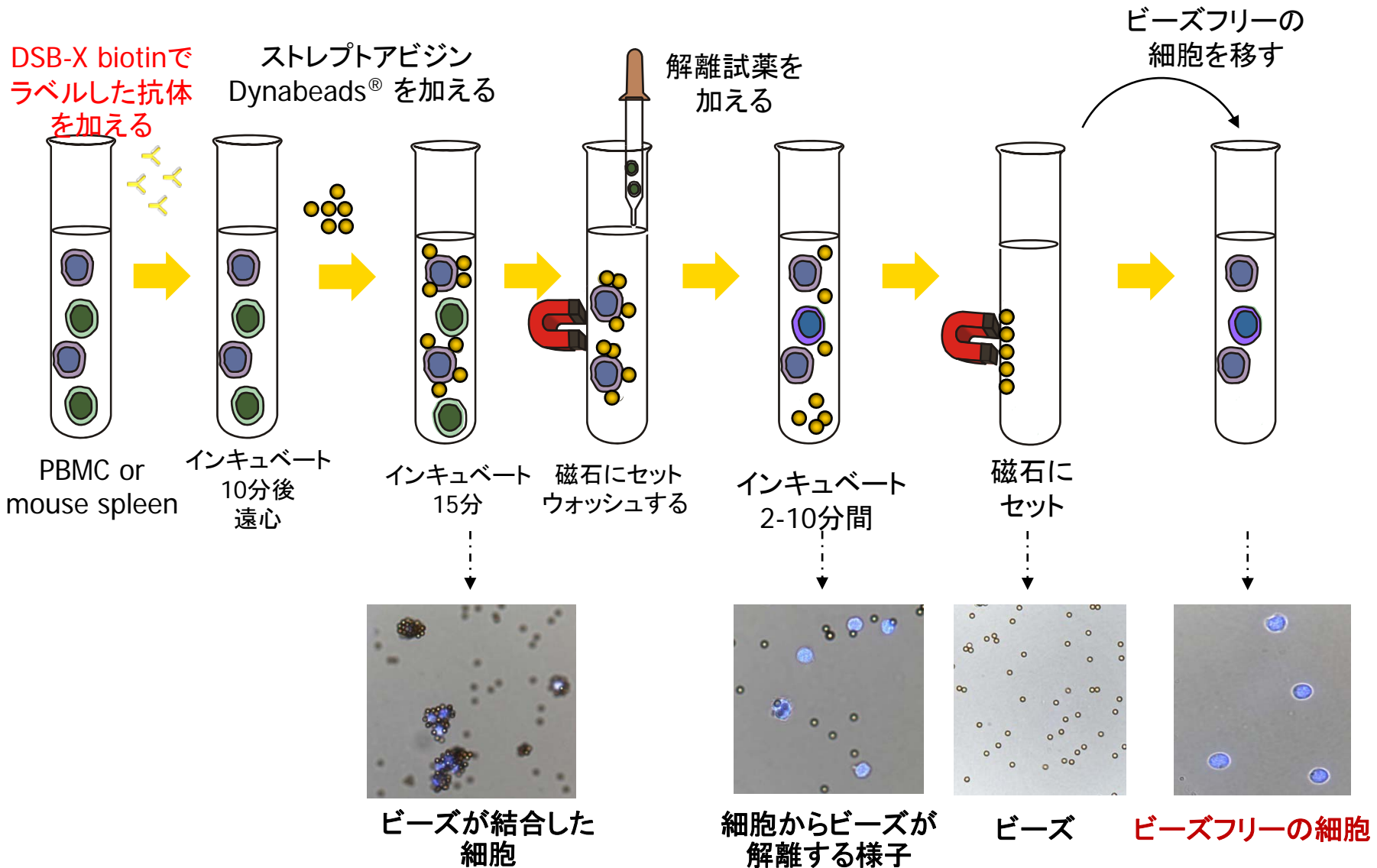


Release Buffer中の  
d-biotin が競合反応する



ビーズフリーの細胞

# Dynabeads® FlowComp™のワークフロー



# Dynabeads FlowComp Flexiキット構成

- Product no.: #110.61D
- Product Name: Dynabeads® FlowComp™ Flexi
- Capacity: Processes 2 x 10<sup>9</sup> PBMC
- **Combo Kit Content (kit supplied in two separate boxes):**
  - 1) Part A: IVGN Dynal component:  
Dynabeads FlowComp Flexi, part A, (cat.no. 110.60D)
    - FlowComp™ Dynabeads®, 3 ml (15mg/ml)
    - FlowComp™ Release Buffer (2 x 20 ml)
  - 2) Part B: IVGN Molecular Probes component:  
DSB-X Biotin Protein Labeling Kit (cat.no. D-20655):
    - DSB-X biotin, succinimidyl ester (5 x 200 ug)
    - DMSO, 500 ul
    - Reaction tubes (5 x w/stir bar)
    - Purification Resin, 10 ml
    - Spin columns, x 5
    - Collection tubes, x 5
    - Dialysis tubing, x 5

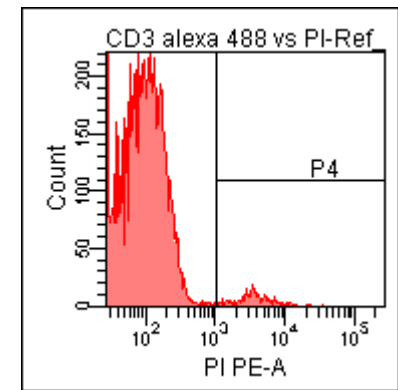
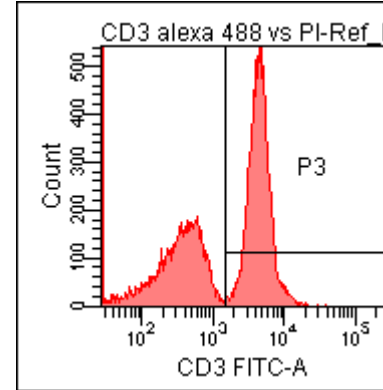
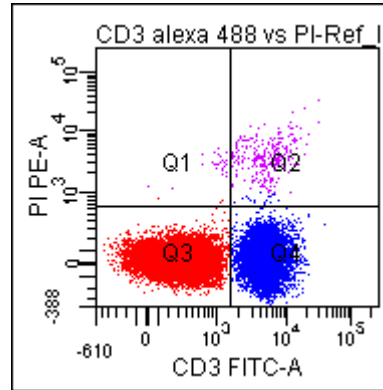
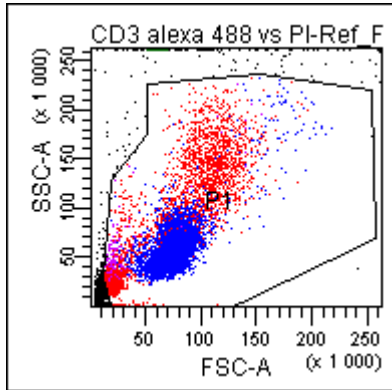


Name	Cat no	Vol	Processes
Dynabeads FlowComp Flexi	110.61D	3 ml	2x10e9 MMC

# Dynabeads FlowComp Flexi Data

## - Positive Isolation of CD3+ T Cells

分離前のPBMC



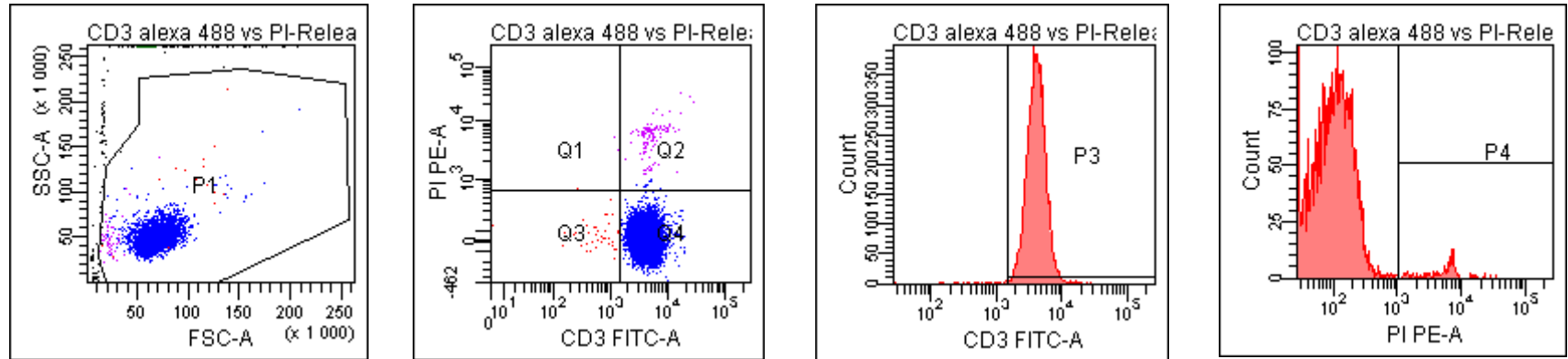
Tube: Ref\_FLEXI a

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	30 435		100,0
P1	20 509	67,4	67,4
P3	11 210	54,7	36,8
P4	334	1,6	1,1
Q1	31	0,2	0,1
Q2	324	1,6	1,1
Q3	9 264	45,2	30,4
Q4	10 890	53,1	35,8
P2	1 024	3,4	3,4

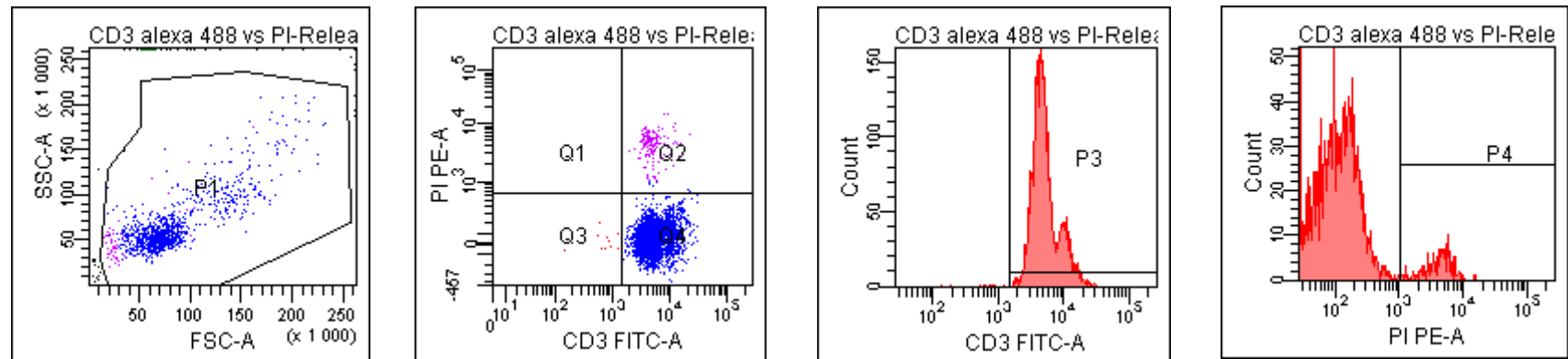
# Dynabeads FlowComp Flexi Data

## - Positive Isolation of CD3+ T Cells, cont.

### Dynabeads FlowComp FLEXIによる分離後



### 他社磁気ビーズによる分離後



Antibody: CD3 (Clone SPV-3Tb)

# Dynabeads FlowComp Flexi Data

## - Positive Isolation of CD3+ T Cells, cont.

	Yield (n=3)	Purity (n=3)	Viability (n=3)
Dynabeads FlowComp Flexi (tube-based)	73%	99.3%	97%
Streptavidin coated nano-particles (column-based)	74%	99.5%	93%

For this application (isolation of human CD3<sup>+</sup> T cells), the results on the parameters tested were equal with the two systems.

### Advantages of Dynabeads FlowComp Flexi

Comes with all biotinylation reagents required

No columns required for cell isolation

Isolates *bead-free* cells (no contamination of sugar or iron components as seen with biodegradable particles)

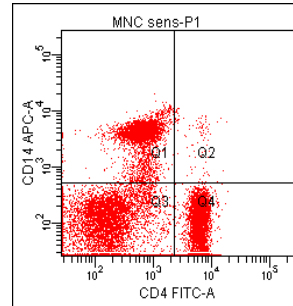
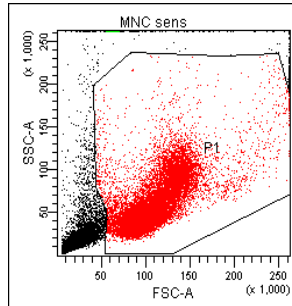
No aggregation of cells with FlowComp system

*Easier to use*, if scale-up is required for isolation

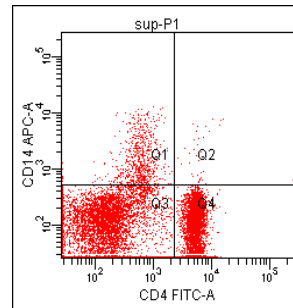
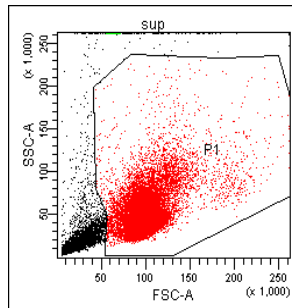


# Dynabeads FlowComp Flexi Data

## - Positive Isolation of Monocytes From PBMC

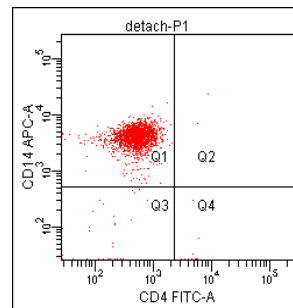
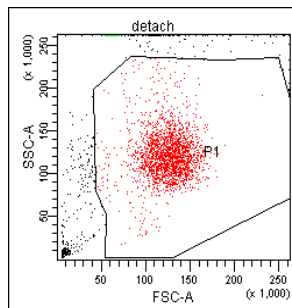


Human PBMC sample before cell isolation



PBMC as above after pulling of CD14 positive cells with Dynabeads FlowComp Flexi

Pulling efficacy approx. 84 %



Released CD14 positive cells after isolation with Dynabeads FlowComp Flexi

Recovery from PBMC ~ 55 %

Purity ~ 98 %

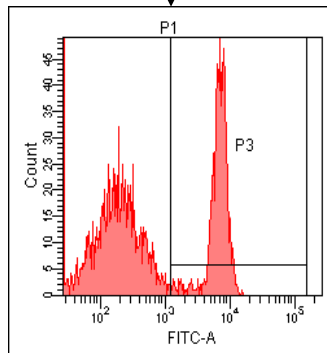
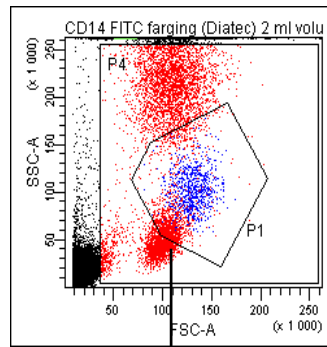
Viability > 80 %

High *purity* and viability of isolated monocytes

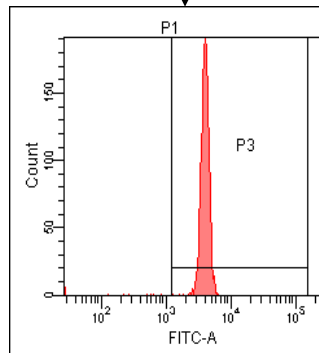
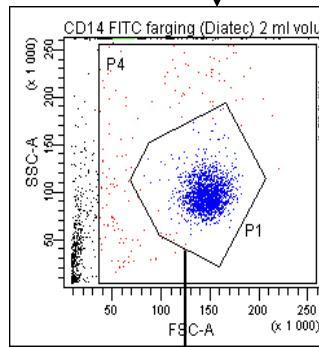
*Bead-free* monocytes can be used for e.g. derivation of DCs from monocytes

# Dynabeads FlowComp Flexi Data

## - Positive Isolation of Monocytes From Whole Blood

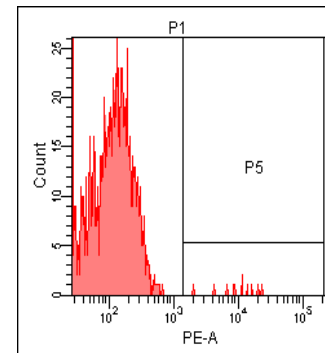


Before isolation, CD14-stained  
(2-8 ° C, 20 min, RBC-lysis)



After isolation, CD14- stained  
(RT, 30 min)

Internal standard beads  
(FlowCount)  
CD14-pos aggregates  
appear after RT incubation



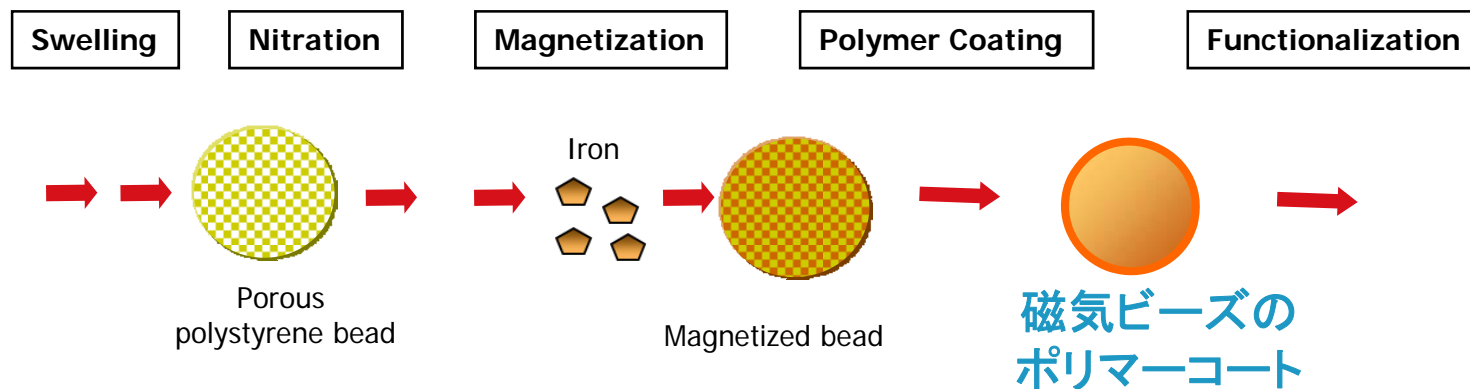
PI staining

This experiment was run in **whole blood** with Dynabeads FlowComp Flexi and an anti-human CD14 antibody; 15 min cell capture at 2-8 ° C and 4 min release at RT.

**Purity (P4-gate); 95-96 %**  
**Recovery (P1-gate); 50-66 %**  
**Viability (P4-gate); 95 - 99 %**

# ポリマーコーティングの重要性

Dynabeadsは他社磁気ビーズと違い  
安定なポリマーでコーティングされています。



## ポリマーコートの特長

- 酸化鉄が外にもれない
- 使用期限が長い(安定)
- 細胞に分解されない

# ナノパーティクルとデキストランに関する文献

他社カラム法等で一般的に使用されているデキストラン性磁気ナノパーティクルは生分解性のため不安定で、酸化鉄のリークやデキストランの細胞内への移行による細胞への影響が懸念されています

## □ Magnetic Nanoparticles Are Neurotoxic

Pisanic et al. Biomaterials 28 (2007)

- Viability: 48時間後の細胞死が10-60%増加
- Function: 分化障害
  - 神経突起の発生やサイズの減少
  - 細胞間のインタラクションが30%減少
- Phenotype: 細胞の発達や機能に必要なGAP-43 の発現の顕著な低下

## □ Fibroblasts Behavior Adversely Affected By DD-Iron Oxide Internalization

Berry et al. Biomaterials 25 (2004)

デキストランラベルした酸化鉄ナノパーティクルの内部移行後の細胞応答

- Viability: 20%以上の細胞が死細胞になった、14% がアポトーシスを起こした
- Function: 細胞の運動性がコントロールの細胞と比較して大きく低下
- Phenotype: 膜の破損がデキストランナノパーティクルでさらに明白となる

# Dynabeads FlowCompに関する資料

- Dynabeads FlowComp 製品紹介(A3二つ折り)
- 個別データ4種
  - Human CD4
  - Human CD8
  - Mouse CD4
  - Mouse CD8
- マニュアル
- プレゼンテーション

サンプルをご希望の方は直接お問い合わせください

各種資料のご請求やお問い合わせはこちらまで

ベリタス技術サポート

TEL: 03-3593-3385

E-mail: [techservice@veritastk.co.jp](mailto:techservice@veritastk.co.jp)