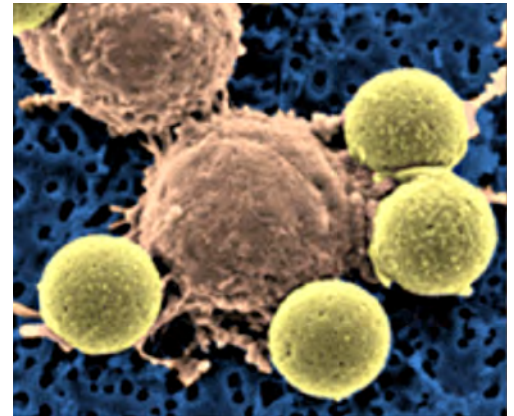


T細胞の活性化、増殖のベストセラー

# Dynabeads™ T-Activatorシリーズ

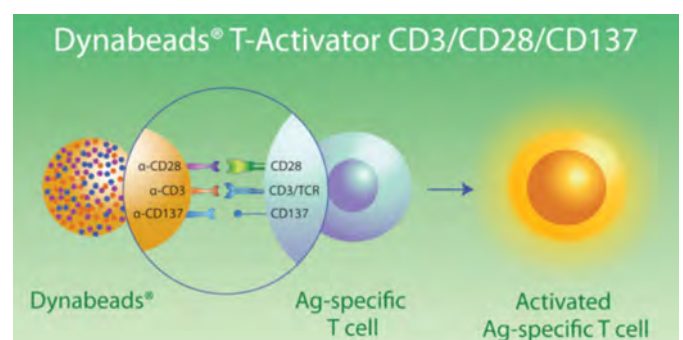
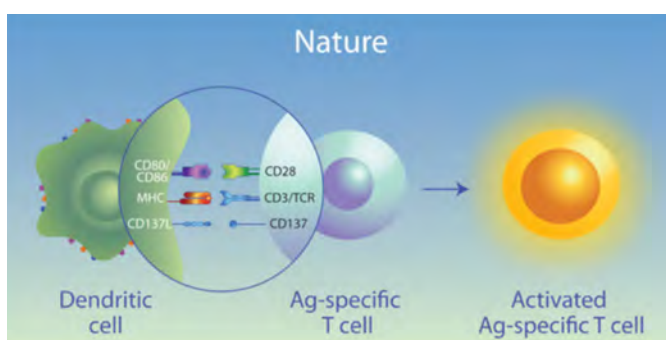
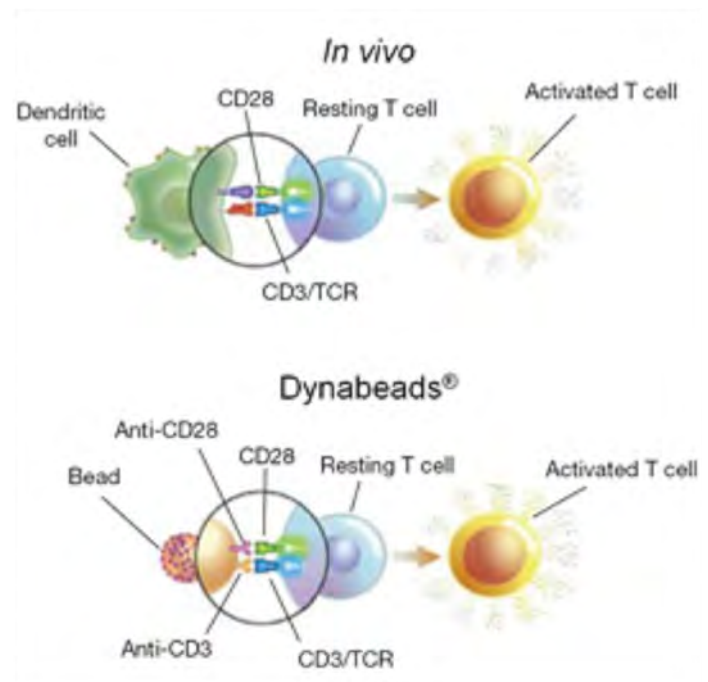
販売開始以来、多くの研究者の方にご利用いただいております。年々論文発表数が増えています。

Dynabeads T-Activatorシリーズは生体内での抗原提示細胞のT細胞活性化を模倣しており、CD3/TCRとCD28への共刺激シグナルを誘導することで様々なT細胞(CD4<sup>+</sup>T細胞、CD8<sup>+</sup>T細胞、ポリクローナルT細胞、抗原特異的T細胞など)を効果的な活性化と増殖を促します。



## 特長

- Ready to Use!  
細胞に混ぜるだけ!
- 簡便  
抗原提示細胞、フィーダー細胞不要!!
- 再刺激可能  
14日間で最大3,000倍もの増幅!!!



# Dynabeadsを用いた生体内のT細胞活性化の模倣

用途に応じてDynabeads™ T-Activatorシリーズから適切な製品をお選びいただけます。

	T細胞の活性化と増殖	制御性T細胞の活性化と増殖	抗原特異的T細胞の増殖	T細胞の単離と増殖	T細胞の単離と増殖 (cGMPグレード)	マウスT細胞の活性化と増殖
	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28	Dynabeads Human Treg Expander	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28/CD137	Dynabeads Human T-Expander CD3/CD28	Dynabeads CD3/CD28 CTS™	Dynabeads Mouse T-Activator CD3/CD28
サンプル	単離されたヒトT細胞	単離されたヒト制御性T細胞	ヒトT細胞株あるいはT細胞クローン	ヒトPBMCあるいは単離されたT細胞	ヒトPBMCあるいは単離されたT細胞	マウス脾臓あるいはリンパ節由来のマウスCD4+ およびCD8+ T細胞サブセット、マウスT細胞クローン
処理できる細胞数	4×10 <sup>7</sup> cells/mL beads	5×10 <sup>6</sup> cells/mL beads	5×10 <sup>6</sup> cells/mL beads	3.3×10 <sup>7</sup> cells/mL beads	1.6×10 <sup>8</sup> cells/mL beads	4×10 <sup>7</sup> cells/mL beads
Dynabeads: T細胞	1:1	4:1	1:10	3:1	3:1	1:1
必要な試薬等	rIL-2 (for expansion)	rIL-2 (for expansion)	rIL-2	rIL-2	rIL-2 MagnaMag™ CTS Magnet	rIL-2 (ヒト用も利用可能)

## FAQ

Q. Dynabeads の特性および利点とは？

- A. マグネットに近づけると、Dynabeads は超常磁性となり、磁気特性を示します。マグネットが遠ざかると Dynabeads は磁気特性を失い、容易に溶液中に分散します。細胞分離において、この特性は明確な利点となり、細胞への応力を軽減することができます。さらに Dynabeads は非特異吸着が少ない滑らかな表面を有しています。これらの特性により、細胞、RNA、DNA、たんぱく質及びその複合体、小器官、エキソソームなどの分離・解析において信頼性及び再現性がある結果を得ることができます。

Q. Dynabeads T-Activatorシリーズの粒径は？

- A. すべて4.5µmです。

Q. T細胞はどのような表現型に分化するか？

- A. Dynabeads CD3/CD28 は、最適化された強力な抗 CD3 のシグナルおよび、近接した抗 CD28 抗体の共刺激シグナルによりナイーブ T 細胞を活性化します。刺激を受けた T 細胞の大多数は CD62L、CD45RO、CD28、CD27、CCR7 および CD95 を発現するメモリー T 細胞 / セントラルメモリー T 細胞になります。抗 CD3 抗体 (OKT-3) のみによる T 細胞の増幅とは異なり、エフェクターメモリー T 細胞あるいは最終分化細胞 (TEMRA CD57+) への分化はごく一部です。

Q. T細胞の活性化または増殖のために用いるDynabeadsの量は？

A. 製品により異なりますので、使用前に製品マニュアルをご確認ください。

**Dynabeads Human T-Expander CD3/CD28(DB11141):**

T細胞の増殖(>3日)には、T細胞当たり3つのDynabeads(3:1)を使用します。

再刺激は、細胞当たり1つのDynabeads(1:1)を使用します。

**Dynabeads Human and Mouse T-Activator CD3/CD28(DB11131, DB11132, DB11161, DB11456, DB11452, DB11453):**

短期間の刺激、増殖および再刺激においてT細胞当たり1つのDynabeads(1:1)を使用します。

**Dynabeads Human Treg Expander(DB11129):**増殖にはT細胞当たり4つのDynabeads(4:1)を使用します。

**Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28/CD137(DB1116D, DB11163):**

T細胞クローン/細胞株の増殖・再刺激について、5-10個のT細胞当たり1つのDynabeads(1:10)を使用します。

Q. 抗原特異的T細胞の増殖の際、何を考慮すべきか？

A. Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28/CD137(DB11162, DB11163)は、最適化された弱い抗CD3シグナルおよび近接した抗CD28および抗CD137抗体と共刺激シグナルを与えることにより抗原特異的T細胞を活性化します。

メモリーT細胞の活性化と増殖については、標的細胞10個当たり1つのDynabeadsを推奨します。

抗原特異的T細胞の増殖において、T細胞に対してあまりにDynabeadsが多い場合、アポトーシスを誘導する可能性があります。対照的に、Dynabeads CD3/CD28(CD137のない)製品は、抗原特異的T細胞より強力な抗CD3活性化シグナルを必要とするナイーブT細胞の活性化用に最適化されています。

Q. CD8+T細胞を増殖するときは何を考慮すべきか？

A. いくつかのCD8+T細胞は、CD28抗原を発現していません。そのため増殖がCD4+T細胞クローンに対して遅い事があります。

CD8+T細胞の増殖においては製品マニュアルに記載されているように、活性化および再刺激に推奨されている数のDynabeadsを使用してください。そしてDay8-12より前に再活性化をおこなってください。

Q. 事前にT細胞を単離していないMNCからナイーブT細胞を増殖しようとする、T細胞と共に他のMNCも増えるか？

A. 増えません。T細胞のみが刺激信号を受け増殖します。一週間後、CD3+細胞の純度は、通常95%を超えます。MNCでは単球が存在するため、単球がDynabeadsを貪食する等の問題が起こる可能性があります。

事前にMNCからDynabeads CD14(DB11149)を用いて単球を除去することを推奨します。

Q. CD4+またはCD8+マウスT細胞の活性化、または増殖するための推奨培養条件は？

A. 2mM glutamine、10%FBS、30IU/mLマウスrIL-2(ヒトrIL-2でも可)を含むadvanced RPMI-1640で培養することを推奨します。最適なDynabeadsと細胞の比は1:1です。

マウスT細胞の短期的な活性化については、96ウェル培養プレートの場合、 $8 \times 10^4$ /ウェル、培地100-200 $\mu$ Lから始めることを推奨します。マウスT細胞の増殖については、適当な培養皿またはフラスコを用い、 $1-1.5 \times 10^6$ /mLから始めることを推奨します。Dynabeadsと細胞の比率及びrIL-2濃度は、T細胞を活性化する場合と同じです。

Q. 活性化した後、どうやってDynabeadsを除去するのか？

A. 培養して3-4日後、ほとんどのDynabeadsは細胞から解離します。8-12日の培養後、Dynabeadsを取り除く場合には、まず2分ほどピペティングした後、マグネットを用いてDynabeadsを集め、上清を新しいチューブへ移し、使用済みのDynabeadsは廃棄します。再刺激には新しいDynabeadsを加えてください。培養を始めて3日目まではDynabeadsは細胞と強いクラスターを形成するため、取り除くのは困難です。短期的な活性化においては、Dynabeadsに細胞が結合した状態で細胞を溶解することができます。溶解後、マグネットを用いてDynabeadsを取り除くことができます。

Q. T細胞を増殖している時、細胞が死んでいる場合の対処は？

A. 最適な培養のため、以下の点を確認してください。

- 増殖に最適な細胞密度 0.5-1.5x 10E6/mLを維持するようにしてください。  
細胞密度が1.5-2.5x 10E6/mLを超えた時は分割して、再刺激してください。
- 製品マニュアルに記載のDynabeadsと細胞比で8-12日毎に再刺激をおこなってください。
- 製品ごとにDynabeadsと細胞比は異なります。過剰なDynabeadsは、細胞の活性化/増殖を阻害する可能性があります。
- 培地に増殖因子(IL-2,IL-7,IL-15,またはその他のサイトカイン)、サプリメント(例)ヒト血清/FBS、L-グルタミン /glutamax、ラジカル・スカベンジャー(10mM N-アセチルシステイン等)を添加してください

Q. T細胞は、ヘルパーT細胞に分化するか？

A. Dynabeads CD3/CD28で刺激されるCD4+ヘルパーT細胞はin vitroでの培養条件において加えるサイトカインに依存してそれぞれのヘルパーT細胞サブセットに分化すると考えられます。

- Dynabeads+IL-2は、Th1サブセットへ
- Dynabeads+IL-4+IL-2は、Th2サブセットへ
- Dynabeads+IL-1b+IL-6、IL-21およびTGFβは、Th17サブセットへ

Q. 再刺激するタイミングは？

A. 開始から8-12日の間に新しいDynabeadsでの再刺激を推奨します。  
再刺激に関しては製品マニュアルに従ってください。

Q. Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28とDynabeads Human T-Expander CD3/CD28の違いは？

A. Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 は、CD3 を発現しているすべてのヒト T 細胞の活性化と増殖に使用できます。Dynabeads Human T-Expander CD3/CD28 は、高い親和性をもつ抗体を Dynabeads に結合しているため、T 細胞の単離及び増殖に使用できます (Expander CD3/CD28 は Dynabeads CD3/CD28 CTS の 研究用グレードになります)。T -Activator CD3/CD28 と T-Expander CD3/CD28 では使用される抗体クローン、そして抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体の割合が異なります。また、T-Activator CD3/CD28 に用いられている抗体は T-Expander CD3/CD28 の抗体より親和性が低いため、T 細胞の分離には使用できません。

商品コード	商品名	梱包単位
DB11161	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28	0.4 mL
DB11131	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28	2 mL
DB11132	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28	10 mL
DB11129	Dynabeads Human Treg Expander	2 mL
DB11162	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28/CD137	0.4 mL
DB11163	Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28/CD137	2 mL
DB11141	Dynabeads Human T-Expander CD3/CD28	10 mL
DB11456	Dynabeads Mouse T-Activator CD3/CD28	0.4 mL
DB11452	Dynabeads Mouse T-Activator CD3/CD28	2 mL
DB11453	Dynabeads Mouse T Activator CD3/CD28	5x2 mL

日本総代理店  
株式会社

**ベリタス**

〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目18-16  
住友浜松町ビル6階  
TEL.03-5776-0078(代) FAX.03-5776-0076  
E-mail: veritas@veritastk.co.jp  
<https://www.veritastk.co.jp/>