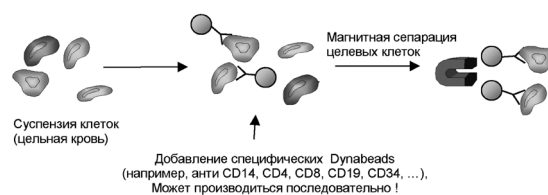


Иммуномагнитная сепарация с использованием реагентов фирмы Dynal является быстрым и надежным методом выделения клеток, субклеточных структур, белков, ДНК и РНК. Выделение клеточных популяций происходит непосредственно из цельной крови, костного мозга или мононуклеарной суспензии. Технология биоманнитного сепарирования основана на применении Dynabeads - парамагнитных полистирольных микрочастиц, покрытых антителами к специфическим антигенам человека или мыши. При необходимости, магнитные частицы и антитела можно отделить от целевых клеток. Выход составляет более 95%, чистота выделенной фракции - более 99% с сохранением жизнеспособности клеток. Изолированные клеточные популяции могут быть использованы для дальнейших исследований, как, например, изучение функциональной и пролиферативной активности клеток, секреция цитокинов, фенотипирование и последующая сортировка.

## Достоинства метода

- Высокий уровень корреляции с проточной цитометрией
- Высокая чувствительность: 10-20 клеток на мкл
- Экономичность, нет необходимости в дорогостоящем оборудовании
- Абсолютный счет, нет необходимости в определении формулы крови
- Нет необходимости в калибровке, возможность исследования единичных образцов
- Хорошая внутрилабораторная и межлабораторная воспроизводимость результатов
- Время анализа: 45-60 минут
- Готовые к использованию реагенты
- Легкость в освоении



## Иммуномагнитное выделение клеток

### Широкий диапазон продукции

Широкий диапазон продукции определяет гибкость метода иммуномагнитного сепарирования и его неограниченные возможности по выделению любой интересующей клеточной популяции.

**Dynabeads, конъюгированные с первичными антителами:** готовые к использованию частицы, связанные с моноклональными антителами, высокоспецифичными по отношению к определенным поверхностным маркерам клеток человека и мыши.

**Dynabeads, конъюгированные со вторичными антителами:** частицы, связанные с очищенными вторичными антителами, позволяющие использовать любые мышинные, крысиные или кроличьи моно- и поликлональные антитела для выделения целевой популяции клеток.

**Dynabeads, конъюгированные со стрептавидином:** для связывания биотинилированных антител и лигандов с целью последующего их использования для разделения клеток.

**Dynabeads, неконъюгированные:** частицы для прямого взаимодействия со специфическими антителами и лигандами путем ковалентного связывания (с использованием Dynabeads M-450 Tosylactivated)

### Два метода разделения

Два метода разделения: позитивное и негативное предлагаются для использования по усмотрению исследователя.

#### Позитивное выделение клеток

- прямое улавливание целевых клеток из любого образца
- высокий уровень чистоты выделенной фракции 99%
- выход целевых клеток >95%
- возможность отделения частиц от выделенных клеток

#### Негативное выделение клеток

- целевые клетки не связываются с антителами в течение и после процедуры выделения
- выход целевых клеток >85%
- сохранение жизнеспособности клеток >95%
- клетки могут быть использованы для любых исследований

#### Области применения

Среди многочисленных областей применения метода иммуномагнитного сепарирования следует особо отметить определение абсолютного количества CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Проточная цитометрия, являющаяся «золотым стандартом» при опре-

делении субпопуляционного состава лимфоцитов, - метод, требующий дорогостоящего оборудования и подготовки высококвалифицированного персонала, что затрудняет его использование в лабораториях с ограниченными финансовыми возможностями. Определение субпопуляций лимфоцитов с использованием Dynabeads является альтернативной методологией, позволяющей осуществить подсчет абсолютного количества клеток определенных субпопуляций в образце цельной крови при минимальных трудозатратах. Метод не требует значительных финансовых вложений, предусматривает использование имеющегося в лаборатории светового или флуоресцентного микроскопа.

#### Оборудование для иммуномагнитной сепарации



1. Магнитный штатив Dynal MPC-S для 6 микропробирок Eppendorf



2. Перемешивающее устройство Dynal MX-1

### Технология магнитной сепарации для Т-клеточной иммунотерапии

В настоящее время становятся достаточно актуальными исследования, посвященные возможности использования аутологичных и генно-модифицированных Т-клеток в комплексной терапии ряда опухолей и злокачественно протекающих инфекций. По данным зарубежных авторов, приведенным в таблице, Т-клеточная иммунотерапия доказала свою эффективность в ряде тяжелых иммунологических заболеваний.

#### Опыт эффективной Т-клеточной иммунотерапии

Заболевание	Т-клетки	Стадия клинического применения	Литература
Аутоиммунные болезни	Аутологичные	преклиническая	Berenson R.J., 2003
Хронические лимфоклеточные лейкомии (CLL)	Аутологичные и аллогенные	Фаза I/II	Bonihady M., 2005; Porter D.L., 2006
Множественная миелома (MM)	Аутологичные	Фаза I/II	Rapoport A.P., 2005
Неходжкинские лимфомы (NHL)	Аутологичные и аллогенные	Фаза I/II	Bartlett N.L., 2004
Почечно-клеточная карцинома	Аутологичные	Фаза I	Tompson J.A., 2003
Рак предстательной железы	Аутологичные	Фаза I/II	Glood A.M., 2003
Хроническая миелоидная лейкомия (CML)	Аутологичные	Фаза I	Deeks S.G., 2002
ВИЧ инфекция	Аутологичные и генно-модифицированные	Фаза I/II	Humeau L.M., 2004

Полный перечень реагентов и оборудования для выделения клеток человека и мыши, субклеточных структур, белков, органелл, ДНК и РНК методом иммуномагнитной сепарации можно получить на сайте «БиоХимМак», а также в отдельном печатном издании компании «Dyna!» по запросу.

Для выделения специфичной Т-клеточной популяции и ее пролиферации традиционно использовали достаточно длительную процедуру концентрации и культивирования Т-клеток в сочетании с антигенной стимуляцией. Благодаря развитию технологии иммуномагнитной сепарации сегодня появился новый методологический подход к получению Т-клеток с целью их пролиферации и генетической модификации для Т-клеточной иммунотерапии.

В системе *in vivo* распознавание антигена и активация Т-клетки происходит посредством поверхностных рецепторов CD3 и CD28.

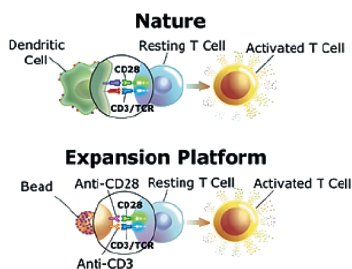


Схема взаимодействия и активации Т-лимфоцита парамагнитной частицей Dynabeads ClinExVivo, моделирующая процесс происходящий *in vivo*

Технология иммуномагнитной активации Dynal основана на использовании специальных парамагнитных частиц *Dynabeads ClinExVivo CD3/CD28*, при контакте с которыми Т-лимфоциты получают сигнал к активации и пролиферации. Для обеспечения стерильных условий выделения и культивирования вся процедура осуществляется на базе специализированной магнитной установки Dynal ClinExVivo MPC.



Dynal ClinExVivo MPC

## Протокол анализа

- Цельную кровь, костный мозг или лимфоцитарную суспензию помещают на стойке для первичного биоматериала. Затем добавляют реагент *Dynabeads ClinExVivo CD3/CD28*
- Смесь инкубируют при постоянном перемешивании 30 мин.
- Образовавшиеся Dynabeads-клеточные комплексы фиксируются на основной магнитной платформе DynalClinExVivo MPC; не связавшаяся с частицами фракция переносится во вторичный мешок для сбора супернатанта.
- В мешок, содержащий связанные с частицами клетки, добавляют культуральную среду. Целевые клетки переносят в культуральный бокс для Т-клеточной пролиферации.

Более подробную информацию об использовании Т-клеточной иммунотерапии в клинической практике и о методологии стимуляции и сепарации лимфоцитов парамагнитными частицами *Dynabeads ClinExVivo* вы можете получить у специалистов нашей компании или на сайте [www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com)

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат. №	Производитель	Наименование
40203D	Dynal (Норвегия)	Dynabeads ClinExVivo CD3/CD28
40201D	Dynal (Норвегия)	Dynabeads ClinExVivo EPOXY
42201	Dynal (Норвегия)	Dynabeads ClinExVivo Sheep-anti-Mouse IgG
12102	Dynal (Норвегия)	Dynal ClinExVivo MPC