

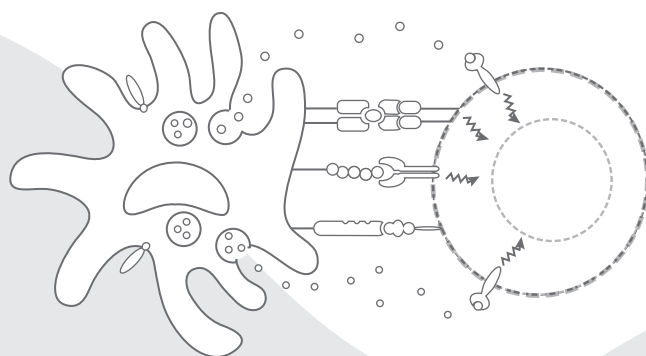
Immunotherapy Research

探索免疫治療

ISSUE 2

Dendritic Cell Therapy

樹突細胞免疫療法



昶安科技有限公司

聯絡電話

0800-012-310

公司網站

www.exbio.com.tw

聯絡信箱

service@exbio.com.tw

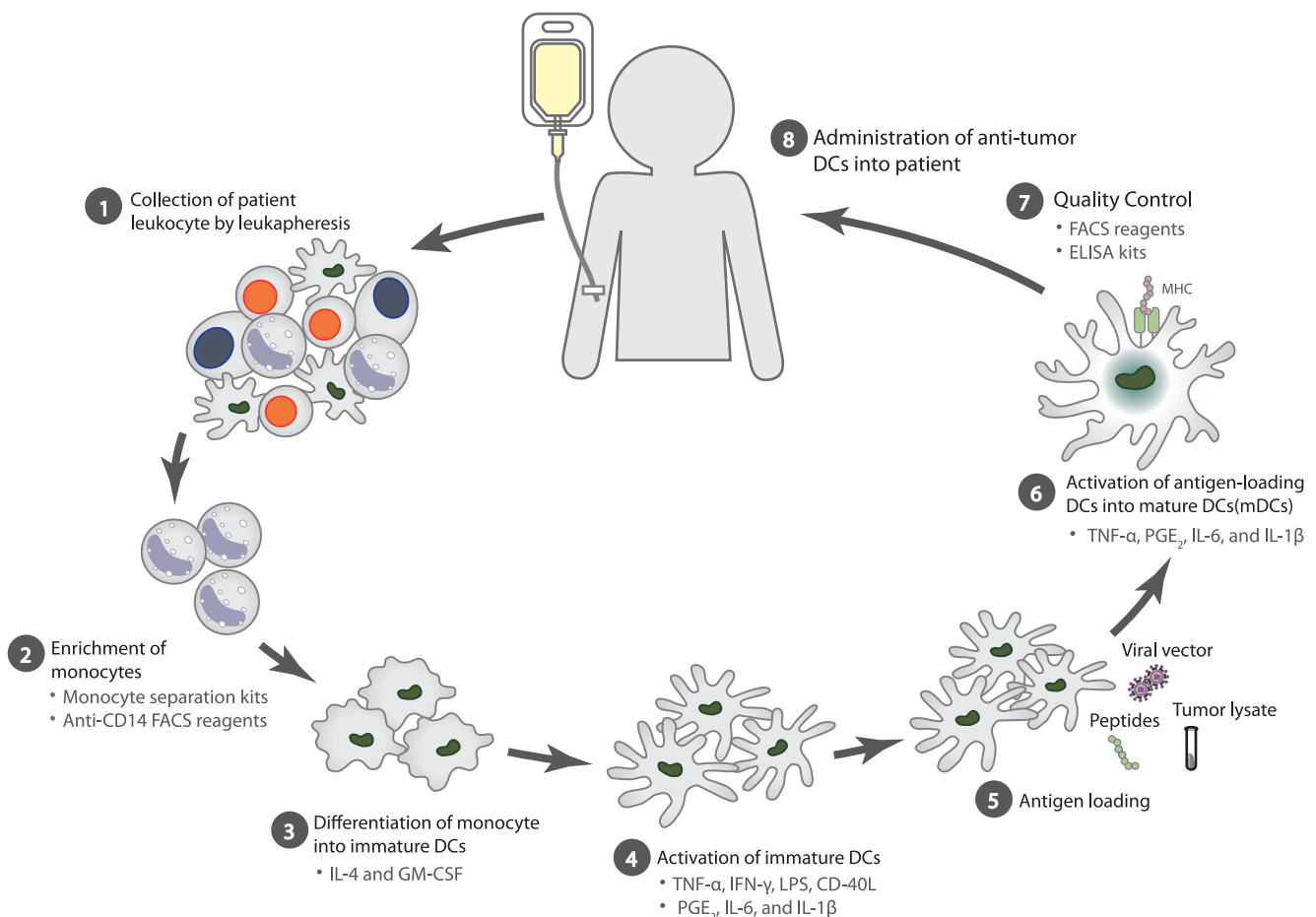
樹突細胞療法 Dendritic Cell Therapy

■ 樹突細胞療法簡介與實驗流程

樹突細胞 (Dendritic cell, DC) 是一種存在於人體的免疫細胞，主要源自於人類骨髓內的造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells, 簡稱 HSC)，經血流分布到全身各處，因其有膜樣和樹突狀突起而得名。DC 是一群異質性高的細胞族群，包含傳統的 DC (conventional DCs, cDCs)，漿細胞樣 DC (plasmacytoid DCs, pDCs)，以及單核球衍生 DC (monocyte-derived DCs, moDCs)。DC 是人體免疫系統的抗原呈現細胞之一，主要的功能在於將外來抗原的片段呈現於細胞膜表面的主要抗原第二型分子 (MHCII) 上，透過抗原片段與 T 細胞免疫辨識，啟動免疫反應。之後經由 T 細胞釋放的細胞激素调控先天性免疫與後天性免疫，DC 同時扮演调控先天與後天免疫的關鍵角色。

DC 於臨床上的應用

基於 DC 開發的 DC 疫苗，主要目的在於加強免疫系統的反應，啟動毒殺性 T 細胞的活化，達到清除癌細胞的目的。DC 疫苗的製備可以通過磁珠分離骨髓來源的單核球 (CD34⁺) 或是周邊血來源的單核球 (CD14⁺)，經過體外細胞激素 GM-CSF 及 IL-4 的刺激，細胞會分化為不成熟的 mo-DC，再將這些細胞經過 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 CD40L 等的刺激，辨識抗原後則活化成成熟的 mo-DC。除此之外，也可以直接從血液中分離 pDC，經過 IL-3、TLR 7/9 Ligands 的刺激，這些細胞可以分化為成熟的 pDC。



圖一. Mo-DC 細胞治療實驗流程



■ DC 細胞療法實驗流程相關產品

Steps	Aim	Application	Products
Enrichment of monocytes	Isolate Monocytes	Cell separation	MojoSort™ Monocyte Separation Kit
	Purity assessment	FACS reagents	Anti-CD3/ CD11c/ CD14/ CD16/ CD20/ CD56
Differentiation of monocyte into immature DCs	Differentiate monocytes	Recombinant cytokines	GM-CSF, IL-4
Activation of immature DCs	Activate imMo-DCs	Recombinant cytokines	CD-40L, IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α
Activation of antigen-loading DCs into mature DC	Activate mMo-DCs	Recombinant cytokines	TNF- α , IL-6, and IL-1 β
Quality control	Identify mMo-DCs	FACS reagents	CD14/ HLA-DR/ CD86/ CD83/ CCR7

■ Enrichment of monocytes

Isolate cells with MojoSort™

Mojosort™ 基本介紹

Mojosort™ 磁珠分選套組，利用專一性抗體接合磁性微珠，分選目標細胞，又可分為 Isolation kits、Selection kits 以及 Nanobeads。

Mojosort™ 產品特點

- 高純度、回收率高
- 操作省時、步驟簡單好上手
- 價格實惠
- 可與 Separation column 系統相容
- 產品經過驗證，不影響後續實驗



(如 Flow Cytometry、Cell differentiation、Cytokine response 等)

Target	Selection	Cat. No
Human CD14 Selection Kit	Positive	480025
Human CD14 ⁺ Monocytes Isolation Kit	Negative	480047
Human CD14 Nanobeads	Positive	480093
Human Pan Monocyte Isolation Kit	Negative	480059

■ DC cell therapy related recombinant cytokines

Differentiate and activate cells with recombinant cytokines

Human

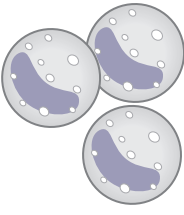
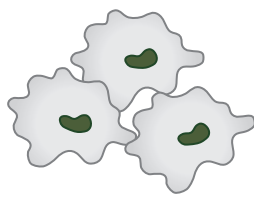
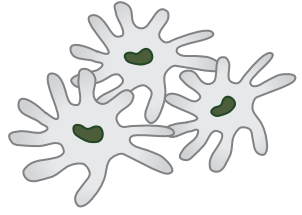
Cytokine	Carrier-free	Animal-free
GM-CSF	572902	713604
IL-4	574002	714904
CD40L	591702	712904
IL-1 β	579402	-
IFN- γ	570202	713906
TNF- α	570102	717904
IL-6	570802	715104

Mouse

Cytokine	Carrier-free	Animal-free
GM-CSF	576302	713704
IL-4	574302	715004
CD40L	-	-
IL-1 β	-	-
IFN- γ	752802	575302
TNF- α	575202	718004
IL-6	575702	715202



Quality control

Lineage	Monocyte	Immature Mo-DC	Mature Mo-DC
			
Human Expression	CD14 ⁺ , CD16 ⁺ , CD11c ⁺	CD14 ⁻ , CD80 ⁻ , CD83 ⁻ , CD86 ^{low} , CD25 ⁻ , CD40 ⁺ , CCR7 ⁻ , CD1a ⁺ , CD209 ^{high} , HLA-DR ⁺ , HLA-ABC ⁺ , CD54 ^{int}	CD14 ⁻ , CD80 ⁺ , CD83 ⁺ , CD86 ^{high} , CD25 ⁺ , CD40 ^{high} , CCR7 ⁺ , CD1a ^{int} , HLA-DR ^{high} , HLA-ABC ^{high} , CD54 ⁺

Identify cells with FACS reagents

Target	Clone	Purified	FITC	PE	APC	PerCP-Cy5.5	PE-Cy7
CD1α	HI149	300101	300103	300105	300110	300129	300121
CD3	SK7	344801	344803	344805	344811	344807	344815
CD11c	3.9	301601	301603	301605	301613	301623	301607
CD14	63D3	367111	367115	367103	367117	367109	367111
	HCD14	325602	325603	325605	325607	325621	325617
	M5E2	301801	301803	301805	301807	301823	301813
CD16	3G8	302001	302005	302007	302011	302027	302015
CD20	2H7	302301	302303	302305	302309	302325	302311
CD25	BC96	302602	302603	302605	302609	302625	302611
CD40	5C3	334302	334305	334307	334309	334315	334321
CD54	HA58	353101	353107	353105	353111	353119	353115
CD56	5.1H11	362502	362545	362507	362503	362505	362509
	HCD56	318302	318303	318305	318309	318321	318317
CD80	2D10	305201	305205	305207	305219	305231	305217
CD83	HB15e	305301	305305	305307	305219	305320	305325
CD86	BU63	374202	374203	374205	374207	374215	374209
CD209 (DC-SIGN)	DCS-8C1	343002	-	-	343005	-	-
CCR7	G043H7	353211	353215	353203	353213	353219	353225
HLA-ABC	W6/32	311402	311403	311405	311409	311419	311429
HLA-DR	L243	307602	307603	307605	307609	307629	307615
	LN3	327002	327005	327007	327021	327019	327017



Find the specific antigen with Flex-T™ MHC Tetramers

Flex-T™ 基本介紹

Flex-T™, 主要組織相容性複合體 (Major Histocompatibility Complex, MHC) Tetramer, 幫助辨認抗原特異性的 T 細胞, 可以靈活地將感興趣的 Peptide 裝載上複合體的結合位, 50 µg Flex-T™ monomer 可以配置成 12 個接不同 peptide 的 tetramer, 適合需要進行大量篩選 peptide 的實驗室, peptide 替換的效率可以透過一般簡單的 ELISA 來做檢測。

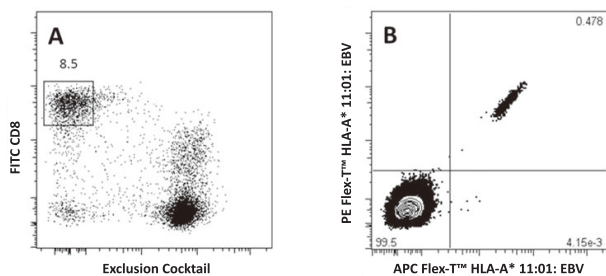
Flex-T™ 產品特點

- 實驗設計彈性大
- 專一性高
- 簡單操作好上手
- 高通量篩選能力
- 可以同時搭配不同螢光

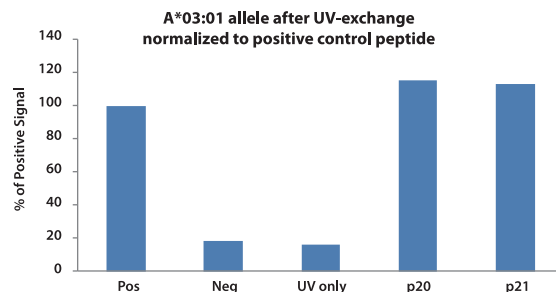
實驗流程



實驗範例



We recommend a two color staining with the same allele/peptide combination to increase the resolution and specificity of the assay. **A)** CD8⁺ T Cells previously gated on lymphocytes (FSC vs SSC) and 7-AAD negative events, stained with FITC anti-CD8a and an exclusion cocktail containing Alexa Fluor® 700 anti-CD4, CD19, CD14, and CD16 Antigen-specific CD8⁺ T Cells, gated as described, were detected with Flex-T™ tagged with PE and APC. HLA-A*11:01 Flex-T™ was loaded with an EBV peptide (IVTDFSVIK).



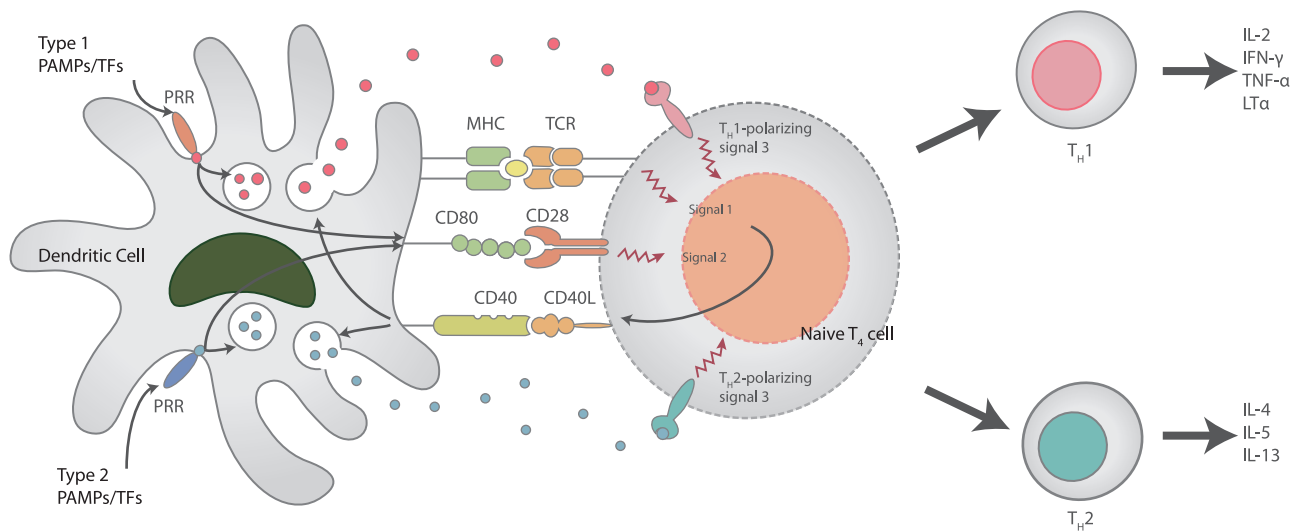
The bar graph shows peptide exchange of HLA-A*03:01 allele. Monomers were irradiated with UV light in the presence of positive (Pos), negative (Neg), p20 (EBV RLRAEAQVK), and p21 (EBV RVRAYTSK) peptides, or no peptide (UV only). ELISA signal was normalized using the Pos control well.

產品型錄

Class I Allele Biotinylated Monomer	Size (µg)	Cat.No.
HLA*01:01 Monomer UVX	50	280001
HLA*02:01 Monomer UVX	50 / 200	280003 / 280004
HLA*03:01 Monomer UVX	50	280005
HLA*11:01 Monomer UVX	50	280007
HLA*07:02 Monomer UVX	50	280009
HLA*08:01 Monomer UVX	50	280011

Accessories	Size	Cat.No.
LEGEND MAX™ Flex-T™ Human Class I Peptide Exchange ELISA Kit	1 Kit	447207
HLA Class I ELISA Control	20 µg	280301
Purified Streptavidin	250 µg	280302
HRP anti-human β2-microglobulin	50 µg	280303





■ DC 與 T 細胞之間的交互作用

DC 透過三個訊號傳遞調控 T 細胞活化與 T_H1/T_H2 細胞的分化

1) 訊號一是抗原特異性訊號,透過 DC 上的模式識別受體 (pattern recognition receptors, PRRs) 將外在病原體的抗原 peptide 裝載上 MHC II,進而結合 TCR,促進 T 細胞針對癌細胞進行有效且精準的攻擊。

2) 訊號二是共同刺激的訊號,主要透過 PRRs,如 Toll 樣受體 (Toll-like receptor, TLRs) 感應病原相關分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 或是發炎相關因子 (inflammatory tissue factors, TFs),透過 DC 上的 CD86 以及 CD80,將訊號傳遞給 T 細胞上的 CD28。

3) 訊號三會促進 T 細胞極化 (Polarization),透過不同水溶性或是細胞膜上的因子調控,像是 IL-12 及 CCL2,會分別促進 T 細胞朝向 T_H1 或是 T_H2 細胞極化。訊號三促進的 T 細胞極化也會受到 DC 表現的 PRRs 調控,PRRs 接受到 PAMPs 或是 TF 時,會分泌不同的細胞激素,進而導致 T 細胞的極化。經過訊號一、訊號二及 IFN- γ 及 TNF- β 刺激的 T 細胞會表達 CD40-L,與 DC 上的 CD40 結合,正回饋刺激 DC 細胞釋放 T_H1/T_H2 極化因子。

DC 疫苗經由以上 3 個訊號活化 Naive CD4 T 細胞,促使其走向 TH1 分化路徑,刺激 CD4 T 細胞與 CD8 T 細胞的活化與增生,活化病人的免疫系統。

■ Confirm the T helper cell polarization

Evaluate T helper cells cytokine production

LEGENDplex™ 基本介紹

LEGENDplex™ 多分析物檢測套組,以螢光微珠免疫分析方法,結合流式細胞儀分析技術,在同一樣品中同時檢測多種生長因子、細胞激素和免疫檢查點分子等。只需 12.5 μ L 至 25 μ L 樣品體積,即可偵測多達 13 種指標物之濃度。

LEGENDplex™ 產品特點

- 可搭配市面上多數流式細胞儀進行分析
- 省時又節省樣品體積
- 提供客製化服務
- 提供免費的官方分析軟體
- 專人至實驗室之教學服務



LEGENDplex™

Human

Description	Plex	Filter	V-bottom
Human Th Panel	13-plex	740721	740722
Human Th1 Panel	5-plex	740723	740724

Mouse

Description	Plex	Filter	V-bottom
Mouse Th Panel	13-plex	740740	740741
Mouse Th1 Panel	5-plex	740744	740745



ELISA Kits

Component	LEGEND MAX™ Kit	ELISA MAX™ Deluxe Set	ELISA MAX™ Standard Set
			
Pre-coated 96-well stripwell plate	●		
Pre-titrated Capture Antibody		●	●
Pre-titrated Detection Antibody	●	●	●
Recombinant Protein Standard	●	●	●
Avidin-HRP	●	●	●
Coating Buffer		●	
Wash Buffer	●		
Assay Buffer/Assay Diluent/Matrix	●	●	
Substrate/TMB Solution	●	●	
Stop Solution	●		
Plate Sealers	●		
Assay Time	4 hours	Overnight + 6 hours	Overnight + 6 hours
特點	批次間穩定性佳 結果一致	適合樣本數多的User， 實驗設計彈性大	適合大量樣本的客戶， 價格經濟實惠

產品型錄

Human

Description	Format	Cat. No.
IL-2 ELISA	ELISA MAX™ Standard	431801
	ELISA MAX™ Deluxe	431804
	LEGEND MAX™	431807
IFN-γ ELISA	ELISA MAX™ Standard	430101
	ELISA MAX™ Deluxe	430104
	LEGEND MAX™	430107
TNF-α ELISA	ELISA MAX™ Standard	430201
	ELISA MAX™ Deluxe	430204
	LEGEND MAX™	430207
IL-4 ELISA	ELISA MAX™ Standard	430304
	ELISA MAX™ Deluxe	430301
	LEGEND MAX™	430307
IL-5 ELISA	ELISA MAX™ Standard	430401
	ELISA MAX™ Deluxe	430404
	LEGEND MAX™	-
IL-13 ELISA	ELISA MAX™ Standard	-
	ELISA MAX™ Deluxe	-
	LEGEND MAX™	435207

Mouse

Description	Format	Cat. No.
IL-2 ELISA	ELISA MAX™ Standard	431001
	ELISA MAX™ Deluxe	431004
	LEGEND MAX™	431007
IFN-γ ELISA	ELISA MAX™ Standard	430801
	ELISA MAX™ Deluxe	430804
	LEGEND MAX™	430807
TNF-α ELISA	ELISA MAX™ Standard	430904
	ELISA MAX™ Deluxe	430901
	LEGEND MAX™	430907
IL-4 ELISA	ELISA MAX™ Standard	431104
	ELISA MAX™ Deluxe	431101
	LEGEND MAX™	431107
IL-5 ELISA	ELISA MAX™ Standard	431201
	ELISA MAX™ Deluxe	431204
	LEGEND MAX™	-
IL-13 ELISA	ELISA MAX™ Standard	-
	ELISA MAX™ Deluxe	-
	LEGEND MAX™	-





昶安科技有限公司

台北市內湖區瑞光路 443 號 6 樓

台北總公司: 02-87515851

新竹分公司: 03-6210429

台中分公司: 04-24220117

台南分公司: 06-3110233

昶安公司 BioLegend

