

凍結初代細胞製品

ラット褐色脂肪細胞（成熟ラット由来）

【Rat Brown Adipocyte, 品番：BAT10C】

2024年7月1日改訂

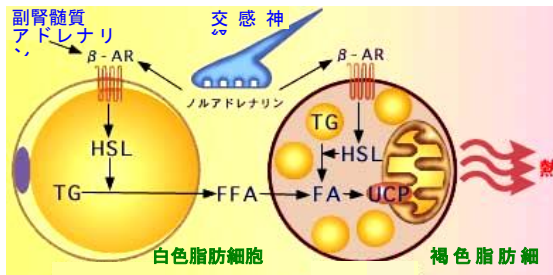
本製品は研究目的にのみご使用になれます。

I. 製品概要

褐色脂肪組織は、過剰に摂取したエネルギーを脂肪として蓄えると同時に、脂肪のエネルギーを直接熱として体外に放出する特殊な働きを持っています。また、交感神経から分泌されるノルアドレナリンのβ作用により、エネルギー消費の自動調節にも寄与しています。

本製品は、SDラットの肩甲骨間褐色脂肪組織から分離させた褐色脂肪前駆細胞を含む細胞群（凍結細胞）です。

本培養系を用いて、褐色脂肪細胞の脂質代謝実験、熱エネルギー放出実験、褐色脂肪の機能解明あるいは新規β3作動薬のスクリーニング等が可能です。



II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル1】です。

本製品の培養には別売の専用メディウムをご使用下さい。

III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディウム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディウムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

IV. 製品構成

| 構成 | 容量 | 本数 | 保存方法 | 有効期限 |
|--------------------|------------------------------|----|--------|------|
| 褐色脂肪前駆細胞 (凍結細胞) | 1×10 ⁶ cells/vial | 1本 | 液体窒素保存 | 6ヶ月 |

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください。

V. 細胞の由来

SD ラット成獣(4~8 週齢)の肩甲骨間褐色脂肪組織

VI. 専用メディアム(別売)

| 品名 | 品番 | 容量 | 保存方法 | 有効期限 |
|-----------------------------|-------|-----------|-----------------------|---------------------------------|
| 増殖用メディアム (ラット褐色脂肪細胞用) | BATGM | 500 mL | -20℃保存 (解凍後は 4℃保存) | ボトル記載(-20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存) |
| 分化誘導用メディアム (ラット褐色脂肪細胞用) | BATDM | 500 mL | -20℃保存 (解凍後は 4℃保存) | ボトル記載(-20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存) |
| 脂肪細胞維持メディアム (ラット褐色脂肪細胞用) | BATMM | 500 mL | -20℃保存 (解凍後は 4℃保存) | ボトル記載(-20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存) |
| 脂肪分化メディアム (ラット褐色脂肪細胞用) | BATFM | 250 mL | -20℃保存 (解凍後は 4℃保存) | ボトル記載(-20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存) |

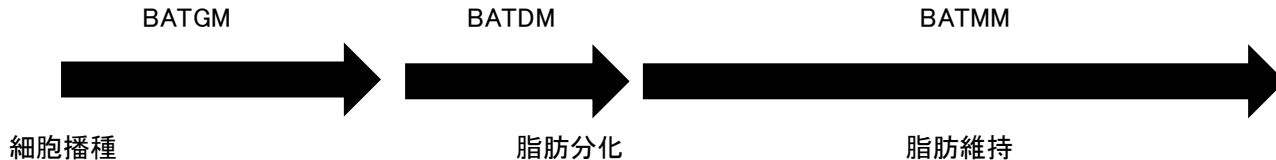
培地の主成分：DMEM、血清、抗生剤、その他

褐色脂肪専用培地の使用例

BATGM: 褐色細胞の増殖に使用

BATDM: 褐色細胞分化に使用(強制分化剤使用)

BATMM: 褐色脂肪の維持に使用



実験の目的にあわせて、ご使用下さい

BATFM: 褐色細胞増殖から脂肪分化・脂肪維持までを1種類の培地で
実験可能(強制分化剤不含)



強制分化剤を使用できない実験などに、ご利用ください

VII. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

細胞解凍・播種

- ※下記は、24well プレートで培養する場合のプロトコールになります。
- ※各種メディウムは細胞の解凍前に予め、冷蔵で解凍しておいてください。
- ※細胞はコラーゲンコート済の培養容器に細胞を播種してください。

増殖用メディウム (品番: BATGM) ・分化誘導用メディウム (品番: BATDM) ・脂肪細胞維持メディウム (品番: BATMM) を使用して培養する場合

【準備するもの】

- ・コラーゲンコート済の培養用 24well プレート
- ・増殖用メディウム ・分化誘導用メディウム ・脂肪細胞維持メディウム

1. 凍結細胞のバイアルを、37°C温水にて2分間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め増殖用メディウム 10 mL が入っている 15 mL 遠心管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。
3. 細胞懸濁液を 4°C、200 × g で 5 分間遠心してください。
4. 上清を除去し、増殖用メディウム 10 mL を添加し、やさしくピペッティングして細胞を再浮遊させ 4°C、200 × g で 5 分間遠心分離します。
5. 上清を除去し、増殖用メディウムを 12.5 mL 加え細胞懸濁液とします。
6. 細胞懸濁液を 1 ウェルあたり 0.5 mL 播種し、5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベーターで培養してください。
7. 翌日 (播種後 1 日目)、37°C に保温した増殖用メディウムを 1 ウェルあたり 0.5 mL ずつ静かに加えてください。
8. 播種後 2 日目に 37°C に保温した増殖用メディウムで 1 ウェルあたり 1 mL ずつ培地交換し、80~100% コンフルエントになるまで培養してください。
※播種してから 3~4 日後に 80~100% コンフルエントになります。
9. 細胞が 80~100% コンフルエントになったら、37°C に保温した分化誘導用メディウムに培地交換 (1 ウェルあたり 1 mL ずつ) し、2 日間培養してください。
10. 分化誘導用メディウムで 2 日間培養後、37°C に保温した維持メディウムに培地交換 (1 ウェルあたり 1 mL ずつ) してください。それ以降は維持メディウムで培地交換を 2 日おきに行なってください。

※脂肪滴が蓄積した脂肪細胞は培養面から剥がれ易くなりますので、培地交換は丁寧に行なってください。

脂肪分化メディウム (品番: BATFM) を使用して培養する場合

【準備するもの】

- ・コラーゲンコート済の培養用 24well プレート
- ・脂肪分化メディウム

1. 凍結細胞のバイアルを、37°C温水にて2分間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め脂肪分化メディウム 10 mL が入っている 15 mL 遠心管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。

3. 細胞懸濁液を 4℃、200 × g で 5 分間遠心してください。
4. 上清を除去し、脂肪分化メディウムを 12.5 mL 加え、再懸濁して下さい。
5. 細胞懸濁液を 1 ウェルあたり 0.5 mL 播種し、5%CO₂ 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。
6. 翌日（播種後 1 日目）、37℃に保温した脂肪分化メディウムを 1 ウェルあたり 0.5 mL ずつ静かに加えてください。
7. 播種後 2 日目に 37℃に保温した脂肪分化メディウムで 1 ウェルあたり 1 mL ずつ培地交換し、それ以降は 1 日おきに培地交換してください。

※播種してから 3～4 日後に 80～100%コンフルエントになります。

※脂肪滴が蓄積した脂肪細胞は培養面から剥がれ易くなりますので、培地交換は丁寧に行なってください。

VIII. 技術情報

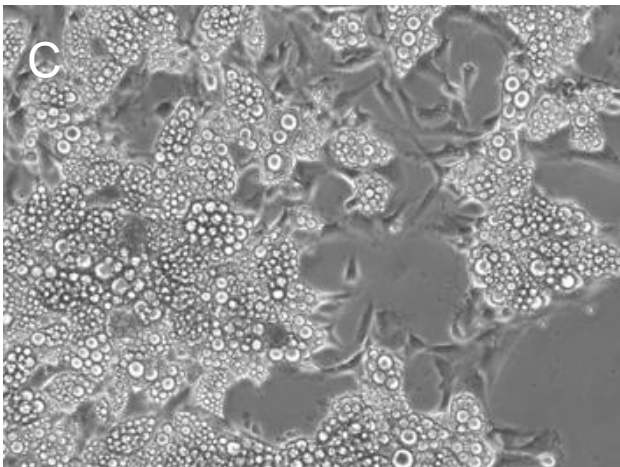
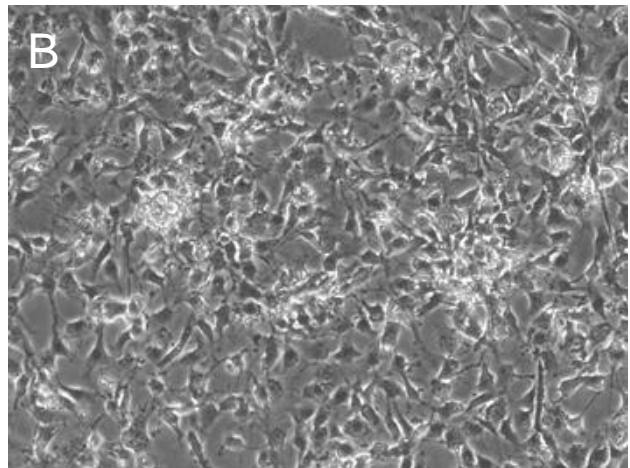
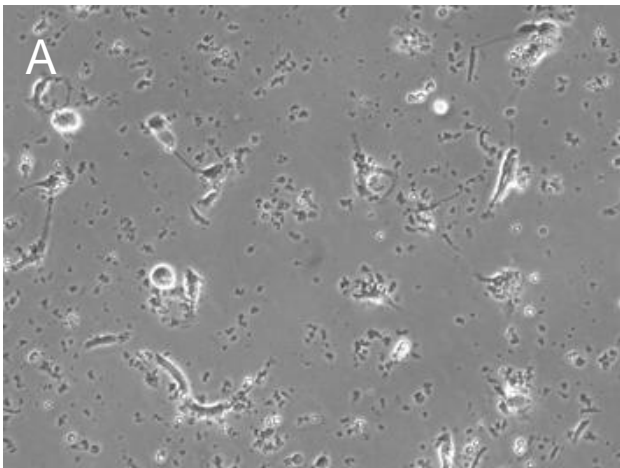


図1. 細胞形態

- A. 培養 1 日目
- B. 培養 4 日目
- C. 培養 8 日目

IX. 参考文献

- 1) Rehnmark S., Kopecky J., Jacobsson A., Nechad M., Herron D., et al. Brown adipocytes differentiated in vitro can express the gene for the uncoupling protein thermogenin effects of hypothyroidism and norepinephrine. *Exp. Cell Res.*, (1989) 182:75-83
- 2) G.Ailhaud, P. Grimaldi, and R. Negrel, Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu. Rev. Nutr.*, (1992) 12:207-233
- 3) 吉田 俊秀、褐色脂肪と β_3 -adrenoceptor agonist. *医学のあゆみ* (1991) 156:707-710
- 4) Yasutake Shimizu and Takashi Shimazu, Effects of wortmannin on increased glucose transport by insulin and norepinephrine in primary culture of brown adipocytes. *B.B.R.C.*, (1994) 202 No.2 July 29 660-665
- 5) Yasutake Shimizu, Danuta Kielar, Yasuhiko Minokoshi and Takashi Shimazu, Noradrenaline increases glucose transport into brown adipocytes in culture by a mechanism different from that of insulin. *Biochem. J.*, (1996) 314:485-490
- 6) Hideki Nikami, Yasutake Shimizu, Michihiro Sumida, Yasuhiko Minokoshi, Toshihide Yosida, Masayuki Saito, and Takashi Shimazu. Expression of β_3 -adrenoceptor and stimulation of glucose transport by β_3 -agonists in brown adipocyte primary culture. *J. Biochem.* (1996) 119:120-125