

凍結初代細胞製品

# 樹状前駆細胞 (C57BL/6N マウス骨髄由来)

【 Mouse Bone Marrow-Derived Dendritic Precursor, 品番 : BMDC02C 】

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

樹状細胞は抗原提示細胞の1種でウイルスや細菌に感染した細胞やがん化した細胞を異物として自分の中に取り込み、異物の排除に寄与します。その際に、異物（ウイルス・がん細胞など）の特徴（目印）をリンパ球の1種であるT細胞へと提示する司令塔のような役割を担っています。近年、この仕組みを利用した樹状細胞ワクチンの開発が進んでいます。

本製品は、マウス大腿骨骨髄より採取した樹状前駆細胞を凍結した細胞です。

解凍後、培養プレートに播種し樹状細胞分化メディウム（品番：DCDM）で培養することにより、樹状細胞へと分化誘導を行うことができます。

## 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   | 保証期限 |
|------------------|----------------------------|----|--------|------|
| 樹状前駆細胞<br>(凍結細胞) | 6×10 <sup>6</sup> cells/mL | 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

マウス大腿骨骨髄由来 (C57BL/6N adult)

## VI. 専用メディア(別売)

| 品名         | 品番   | 容量    | 保存方法                   | 使用期限                                   |
|------------|------|-------|------------------------|--|
| 樹状細胞分化メディア | DCDM | 125mL | -20°C保存<br>(解凍後は4°C保存) | ボトル記載(-20°C保存)<br><b>解凍後2週間(4°C保存)</b> |

培地の主成分 : DMEM、血清、2ME、GM-CSF、抗生素、その他

本製品の再凍結は1回まで可能です。

解凍後は数回で使い切れる量に分注し凍結保存することをお勧め致します。

本製品は凍結融解を繰り返し行なった場合、製品の品質が著しく低下する恐れがあります。

## VII. 操作方法

※本製品の継代は可能ですが、推奨はしておりません。

### 細胞解凍・播種

※下記は、細胞培養用の6wellプレートで培養する場合のプロトコールになります。

#### 【準備するもの】

- Dulbecco's MEM Medium high glucose
- 樹状細胞分化メディア (品番: DCDM)
- 細胞培養用 6well プレート
- 清菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 15 mL 遠心管に、あらかじめ 37°C に温めた Dulbecco's MEM Medium を 9mL 入れて下さい。
2. 凍結細胞のバイアルを液体窒素から取り出し 37°C 温水で、かるく振りながら小さな氷塊が残る程度（約 110 秒前後ほど）まで、すばやく解凍して下さい。
3. 解凍した細胞懸濁液を、先に用意した 15 mL 遠沈管に移して下さい。15 mL 遠沈管内の Dulbecco's MEM Medium を 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収して下さい。細胞を混和した後、室温、1500rpm で 5 分間遠心して下さい。
4. 遠心後、上清を吸引除去して下さい。すぐに室温にもどした樹状前駆細胞分化メディア (品番: DCDM) を 6.5 mL 加え、ゆっくりピッピングを行い細胞を分散させて下さい。
5. 細胞培養用の 6well プレートに 1wellあたり 2 mL ずつ播種して下さい。(6well プレート 3well に播種)
6. 細胞を播種した培養容器を 5%CO<sub>2</sub>、37°C のインキュベータで培養して下さい。接着に時間がかかる細胞のため播種後 3 日間は、絶対に培養容器を動かさないで下さい。（この間は観察も行わないで下さい）
7. 3 日間静置培養した後、接着しなかった細胞<sup>(写真 A)</sup>を取り除くため 37°C に温めた Dulbecco's MEM Medium で洗浄を数回行って下さい。乾燥に非常に弱い細胞ですので、培地交換は必ず 1well ずつ行ってください。  
洗浄後<sup>(写真 B)</sup> 室温に戻した樹状前駆細胞分化メディア (品番: DCDM) 2 mL/well で培地交換を行って下さい 5%CO<sub>2</sub>、37°C のインキュベータで培養して下さい。
8. 以降は 1 日おきに 2 mL/well で培地交換を行って下さい。
9. 播種後徐々に、樹状細胞へと分化はじめ、培養 8 日目ごろから試験にご使用頂けます。接着後は非常に剥がれにくい細胞となります。セルスクレーパーで細胞を剥離し継代することは、可能ですが推奨はしておりません。

## VIII. 技術情報

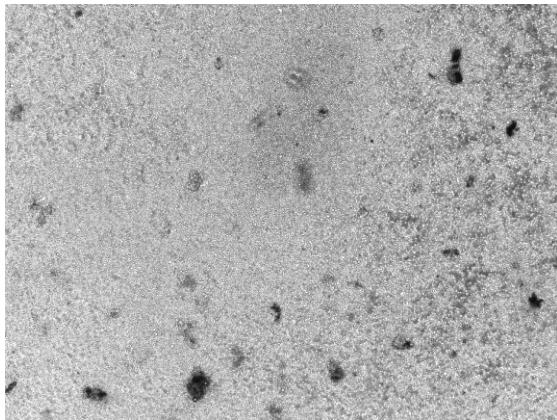


写真 A : 樹状前駆細胞 (洗浄前)

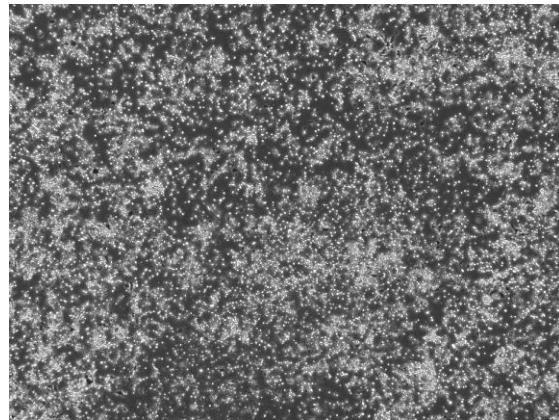
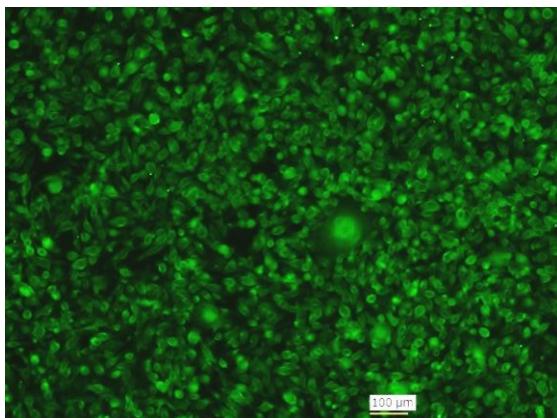


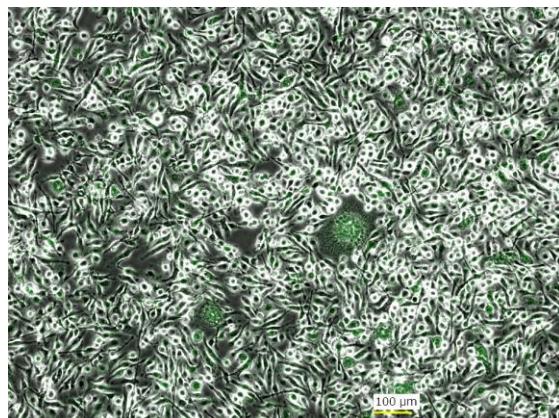
写真 B : 樹状前駆細胞 (洗浄後)

## CD11c (integrin alpha, X) 免疫染色画像

細胞播種後、樹状細胞分化メディウム（品番：DCDM）で 8 日間培養後 CD11c 免疫染色を行った画像



CD11c 染色画像



位相差画像+染色画像

## IX. 参考文献

### 1) IL-6 Regulates In Vivo Dendritic Cell Differentiation through STAT3 Activation

Sung-Joo Park, Takayuki Nakagawa, Hidemitsu Kitamura, Toru Atsumi, Hokuto Kamon, Shin-ichiro Sawa, Daisuke Kamimura, Naoko Ueda, Yoichiro Iwakura, Katsuhiko Ishihara, Masaaki Murakami and Toshio Hirano J Immunol 2004; 173:3844-3854