製品コード MK429

TaKaRa

脂肪細胞分化 / 維持試薬
AdipoInducer Reagent
(for animal cell)

説明書

本製品は、株化細胞マウス胎仔由来のマウス線維芽細胞 3T3-L1（ATCC CaNo. CL-173）・ラット褐色／白色脂肪前駆細胞・マウス／ラット／ウサギ骨髄細胞などの動物細胞を効率よく脂肪細胞へと分化誘導する試薬です。
3T3-L1 細胞は休止期に入ると脂肪細胞へと分化する性質を持っていますがインシュリン、デキサメタゾン（DEX）、3- イソブチル -1- メチルキサンチン（IBMX）などのいくつかの薬剤で刺激することにより効率よく分化することが知られており、脂肪細胞分化の研究に広く用いられています。

本キットには分化誘導する 3 種類の試薬（インシュリン・3- イソブチル -1- メチルキサンチン・デキサメタゾン）が含まれており、各細胞に適した培地に添加して培養するだけで脂肪細胞へと分化させることができます。

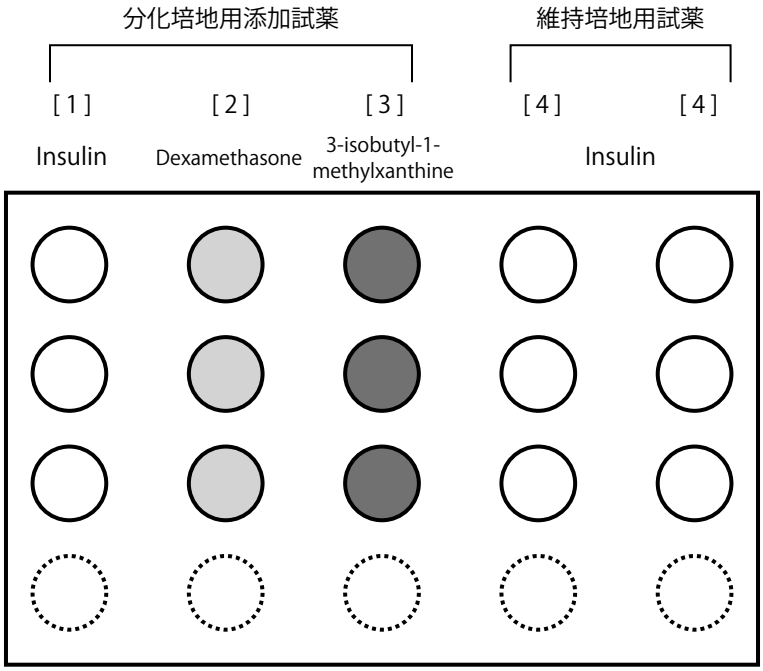
I. 製品内容

1 セット（分化培地 100 ml 分 ＋ 維持培地 200 ml 分）× 3 回分

分化培地用添加試薬（培地 100 ml 分）		
（1）Insulin solution（最終濃度 10 μg/ml）＊	1 ml × 1 本	3セット
（2）Dexamethasone solution（最終濃度 2.5 μM）＊	0.5 ml × 1 本	
（3）3-isobutyl-1-methylxanthine solution（最終濃度 0.5 mM）＊	0.1 ml × 1 本	
維持培地用添加試薬（培地 200 ml 分）		
（4）Insulin solution（最終濃度 10 μg/ml）＊	1 ml × 2 本	

＊培地に所定の量を加えた場合の最終の濃度です。

本製品の箱内に以下のようにコンポーネントを配置しています。



II. 保存　　－ 20℃

III. 使用方法

A）培地の調製方法

添加試薬は自然解凍または 37℃のインキュベーターで解凍してください。

1. 培地と添加試薬のボトルの表面を 70 % エタノールで拭くまたは噴霧して殺菌する。
2. クリーンベンチ内で各細胞に適した培地から滅菌した 100 ml のボトル 2 本に 100 ml ずつ移しかえ、1 本のボトルに分化培地用添加試薬（1）、（2）、（3）を添加し、もう 1 本のボトルには維持培地用添加試薬（4）1 ml を添加しておく。

＊ 添加試薬（3）はラット褐色脂肪細胞・マウス／ラット／ウサギ骨髄細胞の分化には必須ではありません。
必要に応じてご使用ください。

＊ 分化培地、維持培地は、それぞれ 100 ml ずつ必要のない場合は、培地 10 ml 当り分化用であれば添加試薬（1）100 μl、（2）50 μl（必要な場合（3）10 μl）を添加し、維持用であれば（4）100 μl のみ培地を調整して添加してください。

＊ 添加試薬を加えた培地は 4℃で約 2 ヶ月保存可能です。

＊ ラット褐色脂肪細胞は温度変化の影響を受け易いため、培地は必ず 37℃に保温してしてからご使用ください。

B）分化誘導

＜ラット褐色／白色脂肪前駆細胞の場合＞

1. 分化培地を用意する。（増殖培地 10 ml に対して添加試薬（1）インシュリン 100 μl と（2）デキサメタゾン 50 μl を添加しておく）
2. 90 ～ 95 % コンフルエンス状態になった細胞の培地を除去する。
3. 分化培地を入れ、48 時間（2 日）培養する。
4. 分化培地を除去した後、維持培地（増殖培地 10 ml に対して添加試薬（1）インシュリン 100 μl 添加しておく）に交換して 5 ～ 10 日間培養する。5 ～ 7 日に一度培地交換する。
（培地は必ず 37℃に保温してからご使用ください。）
徐々に細胞内に脂肪が蓄積されていくのが観察できる。

＜マウス線維芽細胞 3T3-L1 細胞の場合＞

1. 分化培地を用意する。（血清を含む DMEM 培地 10 ml に対し添加試薬（1）インシュリン 100 μl と（2）デキサメタゾン 50 μl と（3）イソブチルメチルキサンチン 10 μl を添加しておく）
2. 100 % コンフルエンス状態になった 2 日後に分化培地に交換し、48 時間（2 日）培養する。
3. 分化培地を除去した後、必要であれば維持培地（血清を含む DMEM 培地 10 ml に対し添加試薬（4）インシュリン 100 μl 添加）に交換して 5 ～ 10 日間培養する。

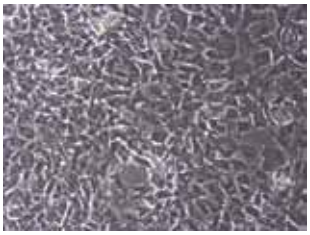
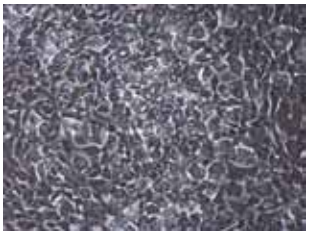
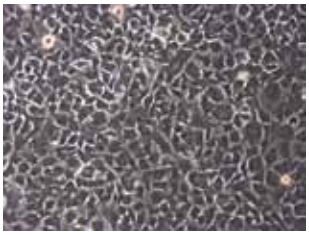
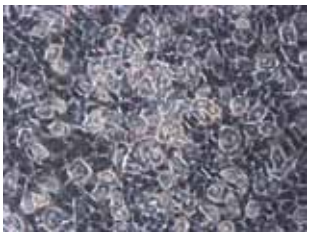
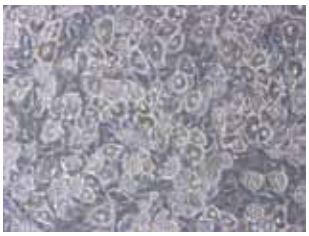
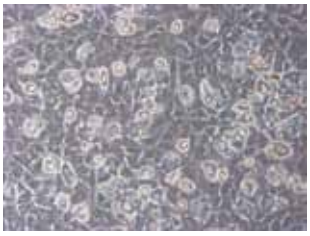
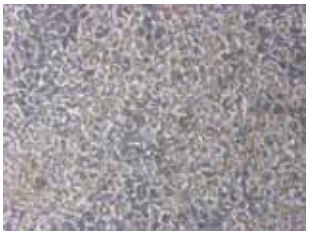
＜マウス／ラット／ウサギ骨髄細胞の場合＞

1. 分化培地を用意する。（血清を含む RPMI1640 培地 10 ml に対し添加試薬（1）インシュリン 100 μl と（2）デキサメタゾン 50 μl を添加しておく。）
2. 細胞を播き込んで 1 週間培養した後、分化培地に交換し、48 時間（2 日）培養する。
3. 分化培地を除去した後、維持培地（血清を含む RPMI1640 培地 10 ml に対しインシュリン 100 μl 添加しておく）に交換して 2 ～ 3 週間培養する。

IV. 使用例

ラット褐色脂肪前駆細胞を培養し、分化培地として添加試薬（1）インシュリンを加えた培地、（1）インシュリンと（2）デキサメタゾンを加えた培地、（1）インシュリン、（2）デキサメタゾンおよび（3）イソブチルメチルキサンチンを加えた培地を用いて、分化誘導を行った。

分化培地を除去後、維持培地に交換して、1、3、4 日目に細胞を観察した。分化により褐色脂肪前駆細胞がはじめは小さな油滴で満たされるが、やがて多房性構造をもつ褐色脂肪細胞になることが顕微鏡で観察される。

	（1）インシュリンのみ	（1）＋（2）デキサメタゾン	（1）＋（2）＋（3）イソブチル
Day 1			
Day 3			
Day 4			

V. 関連製品

ラット褐色脂肪細胞／培養キット（製品コード MK422/MK423/MK424）
ラット白色脂肪細胞／培養キット（製品コード MK428/MK423/MK427）
正常ラット骨髄細胞（製品コード MK433/MK434）
正常ウサギ骨髄細胞（製品コード MK431/MK432）
正常マウス骨髄細胞（製品コード MK435/MK436）
Osteoblast-Inducer Reagent（for animal cell）（製品コード MK430）

VI. 注意

- 本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

製品についての技術的なお問い合わせ先
TaKaRa テクニカルサポートライン
Tel 077-543-6116　Fax 077-543-1977
ホームページアドレス http://www.takara-bio.co.jp/
タカラバイオ株式会社

200907