

自己免疫性脳脊髄炎モデル 誘導試薬



仕様が新しくなりました！

本試薬はマウスに自己免疫性脳脊髄炎（EAE）や免疫応答を誘導する試薬です。以前は予め試薬類がシリンジに入っていた Ready-To-Use タイプでしたが、輸送状態やお客様からの声を反映し、抗原充填済みシリンジと凍結乾燥した PTX バイアルとしてご提供いたします。従来品とは異なり、PTX 濃度を自由に設定してお使いいただけるようになりました。



有効期限が短いため、ご購入の際には十分ご注意ください。

EAE 誘導用 構成内容：抗原エマルジョン（1 mL シリンジにあらかじめ入っています）、PTX 5 μg

商品名	株	週齢	品番	包装	希望販売価格
Hooke Kit™ MOG35-55/CFA Emulsion PTX	C57BL/6	10+	EK-2110	10 test	¥78,000
Hooke Kit™ MOG1-125/CFA Emulsion PTX	C57BL/6	10+	EK-2160	10 test	ご照会
Hooke Kit™ PLP139-151/CFA Emulsion	SJL	9-11	EK-0120	10 test	¥102,000
Hooke Kit™ PLP139-151/CFA Emulsion PTX	SJL	9-11	EK-2120	10 test	¥97,000

百日咳毒追加用 構成内容：PTX 5 μg

商品名	品番	包装	希望販売価格
Lyophilized pertussis toxin, 5μg	LT-0105	5 μg	¥22,000

免疫応答用 構成内容：抗原エマルジョン（1 mL シリンジにあらかじめ入っています）

商品名	株	週齢	品番	包装	希望販売価格
Hooke Kit™ MOG35-55/CFA Emulsion	C57BL/6	8+	EK-0111	10 test	¥67,000
Hooke Kit™ PLP139-151/CFA Emulsion	SJL	8+	EK-0122	10 test	¥67,000
Hooke Kit™ MBP1-17/CFA Emulsion	B10.PL or PL/J	8+	EK-0130	10 test	¥72,000
Hooke Kit™ Ovalbumin/CFA Emulsion	Any	Any	EK-0301	10 test	¥67,000
Hooke Kit™ Ovalbumin/IFA Emulsion	Any	Any	EK0311	10 test	¥66,000
Hooke Kit™ Pigeon Cytochrome c/CFA Emulsion	Any	Any	EK-0302	10 test	¥67,000
Hooke Kit™ Pigeon Cytochrome c/IFA Emulsion	Any	Any	EK-0312	10 test	¥66,000
Hooke Kit™ Hen Egg Lysozyme/CFA Emulsion	Any	Any	EK-0303	10 test	¥67,000
Hooke Kit™ Hen Egg Lysozyme/IFA Emulsion	Any	Any	EK-0313	10 test	¥66,000

ネガティブコントロール 構成内容：特異的抗原を除いたエマルジョン（アジュバンド）のみ（1 mL シリンジにあらかじめ入っています）

商品名	品番	包装	希望販売価格
Hooke Control Kit™ for EK-2110	CK-7110	5 test	¥46,000
	CK-2110	10 test	¥61,000
Hooke Control Kit™ for EK-2160	CK-7160	5 test	¥46,000
	CK-2160	10 test	¥61,000
Hooke Control Kit™ for EK-0120	CK-5120	5 test	¥51,000
	CK-0120	10 test	¥84,000
Hooke Control Kit™ for EK-2120	CK-7120	5 test	¥46,000
	CK-2120	10 test	¥61,000
Hooke Control Kit™ for EK-0111	CK-5111	5 test	¥33,000
	CK-0111	10 test	¥49,000
Hooke Control Kit™ for EK-0122	CK-5122	5 test	¥33,000
	CK-0122	10 test	¥49,000
Hooke Control Kit™ for EK-0301	CK-5301	5 test	¥33,000
	CK-0301	10 test	¥49,000
Hooke Control Kit™ for EK-0311	CK-5311	5 test	¥52,000
	CK-0311	10 test	¥35,000
Hooke Control Kit™ for EK0302	CK-5302	5 test	¥33,000
	CK-0302	10 test	¥49,000
Hooke Control Kit™ for EK0303	CK-5303	5 test	¥33,000
	CK-0303	10 test	¥49,000

実験例：EAE Induction by Active Immunization in C57BL/6 Mice

本プロトコルは下記商品用に推奨しています。

- ・ Hooke Kit™ MOG₃₅₋₅₅/CFA Emulsion PTX (EK-2110)
- ・ Hooke Kit™ MOG₁₋₁₂₅/CFA Emulsion PTX (EK-2160)

◆ 百日咳毒素 (PTX) の調製

凍結乾燥状態の PTX を PBS で溶解します。高濃度の場合は重篤な EAE を誘導します。PBS の量は重篤な EAE を誘導しない程度に調整をします。

重要：同じ PTX 溶液を全マウスに投与してください。

投与前に PTX 溶液をブールしてください。

必ず商品の添付書に従って調製してください。

手順

1. 50 mL 滅菌ポリプロピレンチューブに、PTX 5 µg バイアル 1 本あたりに必要な PBS 2.5 mL を加えます。

注意：PBS を加える量は、各ラボの条件、ストレス、投与量によって調整してください。上記に記した推奨希釈はロット番号 1001、1002 のみ推奨しております。他のロット番号では PBS 希釈量が異なります。

2. 3 mL シリンジと 18G 針を使用して、50 mL チューブから PBS 1.5 mL を各 PTX バイアルに加えます。

3. やさしくよく PTX バイアルを混ぜます (ボルテックスは使用しないでください)

4. 2 分間放置し、その後再びよく混ぜます。

5. 同じ 3 mL シリンジを使って、各バイアルから溶液を 50 mL チューブに移します。

6. 各バイアルに対してステップ 2-5 を 2 回繰り返します。

7. 使用する間、PTX 溶液は 2 ~ 8°C で保管します。

◆ 抗原エマルジョンと PTX の投与

皮下注射テクニックはうまく EAE 誘導するために、適切な投与及び一貫したストレスが重要です。

(下記手順は右利き用ですので左利きの方は、その逆で行ってください)



1. 右手の親指と人差し指でマウスの尾をつまみます。



2. 残った指でマウスをケージに固定します。



3. 左手の 2 本の指でマウスの頭の後ろを固定します。



4. 右手でエマルジョン 0.1 mL を上背に皮下注射します。エマルジョンの漏れを防ぐために針を 10 ~ 15 秒間皮下に挿入しておいてください。あるいはシリンジプランジャーを軽く引くと漏れを防ぐことができます。



5. 同様にエマルジョン 0.1 mL を腰部に注射します。再びエマルジョンの漏れを防ぐために針を 10 ~ 15 秒間皮下に挿入しておいてください。あるいはシリンジプランジャーを軽く引くと漏れを防ぐことができます。

全マウスについて上記 1 ~ 5 の手順を行います。

6. 1 mL シリンジに PTX 溶液 1 mL を吸いとります。

7. 新しい 27G 針を装着します。

8. 0.1 mL/マウスで注射します (最初の PTX 投与)。

全マウスについて 6 ~ 10 を行います。

9. 22 ~ 26 時間後、PTX 投与 (ステップ 6 ~ 8) を全マウスについて行います。

10. 免疫後 7 日ほどたってから毎日 EAE のサインをチェックします。

11. 麻痺症状がでたらすぐにケージの床にフードペレットとウェットフードを与え、マウスが補給しやすい場所に水を置きます。重篤な麻痺には水源として HydroGel (Clear H₂O 社) が用いられています。

◆ マウス選択と取扱い

均質化した EAE 発現のために、10 週齢もしくはそれ以上の C57BL/6 雌マウスを用います。全マウスの週齢は揃えたほうがよいでしょう。週齢数が高いマウスは一般的に、より重篤な病気を引き起こし、一貫した発現が見られます。雄マウスが用いられる場合、メスよりも EAE の一貫性が低い可能性がございます。EAE 発病はマウスの取扱い方、ラボのコンディション及び、マウス週齢、ストレイン、フリーダーによって影響を受けます。ストレスが強い場合、EAE 発病率が低くなるため、ストレスが少ないことが EAE 発病の確立にとっても重要です。一貫した EAE、最小限のマウスストレスは下記の通りです。

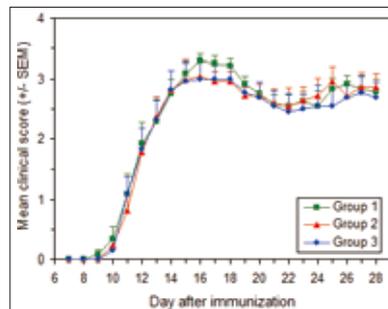
- 実験を始める前に最低 7 日間はラボで馴化させる。
- 静かな環境 (少ない騒音、振動) を与える
- 過度の取扱いは避け、やさしく扱う
- マウス部屋で全行程を行うようにする。マウスの移動は避ける。
- 上記手順に従う。

麻酔は必要ありません。

しかしながら獣医師の指示のもと必要であれば吸入麻酔をお薦めします。

◆ 予測結果

EAE は一貫してマウスの 90 ~ 100% で誘導します。免疫後 9 日 ~ 14 日のうちに麻痺の症状を伴い、ほとんどのマウスで平均最大スコア 3.0 ~ 3.5 になります。スコアについては web (http://hookelabs.com/protocols/eaeA1_C57BL6.html) をご参照ください。



C57BL/6 マウスの EAE 誘導

単独実験における 3 つの独立したグループのデータを示す。11-13 週齢 C57BL/6 マウス (Taconic Farms) に Hooke Kit™ MOG₃₅₋₅₅/CFA Emulsion PTX (EK-2110) を免疫した。百日咳毒素 PTX は 3 バイアルを投与前にブールした。

C57BL/6 (JThe Jackson Laboratory) に、MOG₁₋₁₂₅/CFA Emulsion PTX (EK-2160) を推奨プロトコルに従って使用したところ同じような結果が得られた。

グループ	マウスグループ	免疫時の週齢	平均最高 score ± SD	発症日 ± SD	発症率
1	11	11-13 週	3.46±0.14	11.3±1.4	100%
2	11	11-13 週	3.36±0.32	11.7±1.8	100%
3	11	11-13 週	3.18±0.56	11.3±1.7	100%

お願い および 注意事項

- 希望販売価格 … 「希望販売価格」は参考であり、販売店様からの販売価格ではございません。(12509)
記載の希望販売価格は 2016 年 6 月 1 日現在の希望販売価格です。
予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認下さい。消費税は含まれておりません。
- 使用範囲 … 記載の商品は全て、「研究用試薬」です。
人や動物の医療用・臨床診断用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。
記載の社名・商品名等の名称は、弊社もしくは各社の商標または登録商標です。

取扱店



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL: <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)
TEL: (03) 5632-9610 FAX: (03) 5632-9619
TEL: (03) 5632-9620