

D35 Et-Free

Class A CpG oligonucleotide-Human & Mouse TLR9 ligand

カタログ No. CN-65001

研究用試薬

■ 説明

Toll 様受容体(Toll-like receptors: TLRs)は、侵入した病原体に対する初期自然免疫応答の1つとして、高度に保存された構造モチーフを認識する。TLR9 は哺乳類と細菌の DNA を区別し、免疫細胞の活性化を誘導する。CpG モチーフを含む合成オリゴヌクレオチド(CpG -ODN)は、免疫系を刺激する効果を有し抗原提示細胞の成熟と活性化を促し、Th1 および炎症性サイトカインの誘導を促進する。

ジーンデザイン社では、免疫細胞を活性化するための高純度、エンドキシンフリー、無菌状態でバイアル封入された高品質な TLR9 アゴニストとそれぞれのコントロールを提供している。本品は A-クラス TLR9 リガンドであり、主に pDC からの IFN- α 産生を誘導する。本品は PBMC からの IFN- α の誘導、IFN-シグナルパスウェイの活性化に有用である。

■ 製品内容

- ✓ 配列: $g^{\wedge}gtgcatcgatgcagggg^{\wedge}g^{\wedge}g$
Lower Case=DNA, \wedge =Phosphorothioated
- ✓ CpG モチーフを含む
- ✓ 理論分子量: 6327.33
- ✓ 10 mg / バイアル
(無菌環境下凍結乾燥品を密栓して供給)

■ 保存温度

未開封時 -20°C 以下

■ 輸送温度

-20°C 以下

■ 品質管理

純度: RP-HPLC 90%以上

質量: MALDI-TOF/MS で理論分子量との一致を確認

エンドキシン: 0.5 EU/mg 以下を確認

■ 溶解上の注意点

本品は塩を含む溶液ではゲル化し直接溶解出来ない。そのため、まずエンドキシンフリー水(大塚注射用水など)で 1~10mg/mL で溶解してストック溶液を調製した後、使用するバッファーや培地(PBS や RPMI 等)を用いて目的濃度に調製する。ストック溶液は -20°C で凍結保存する。ストック溶液は凍結融解を繰り返しても安定であるが、頻回の凍結融解は推奨されない。必要に応じて小分けして凍結保存する。

■ 実験例

(*in vitro* アッセイ)D35 Et-Free は 10mg/mL で蒸留水に溶解(10mg/mL は 1580 μ M に相当)する。最終刺激濃度(例えば 1 μ M)の 2 倍濃度の溶液を RPMI-10%FCS で作成(2 μ M の場合は 1 μ l + 789 μ l)する。細胞懸濁液(1x10⁶ cells/100 μ l of RPMI-10%FCS)に 100 μ l の 2 μ M D35 Et-Free 溶液(RPMI-10%FCS)を加えて、24 時間 incubation する。

(結果)裏面参照

(結果)

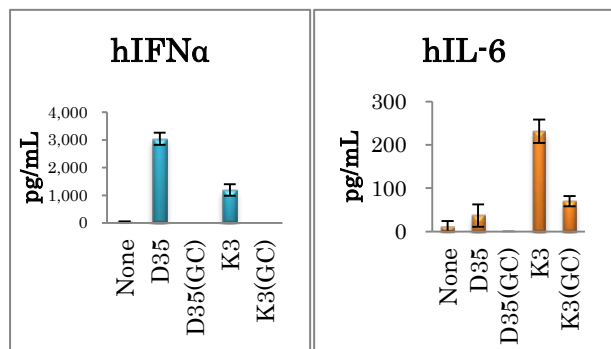


図1. ヒト PBMC におけるサイトカイン誘導

ヒト PBMC (1×10^6 cells) を $1 \mu\text{M}$ の各 CpG で刺激後 24 時間の培養上清中のヒト IFN- α および IL-6 濃度を ELISA で測定した。棒グラフは平均 \pm SEM を示す。

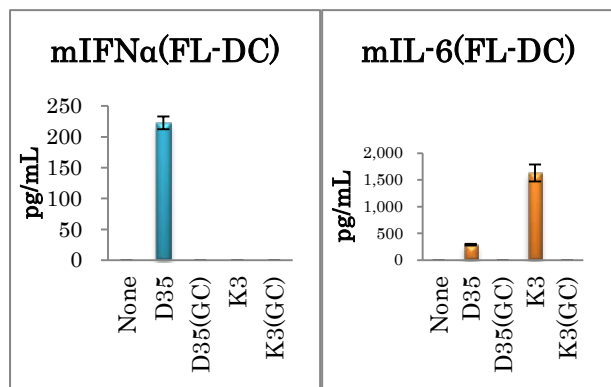


図2. マウス FL-DC におけるサイトカイン誘導

FLT3L で分化誘導したマウス骨髄由来 FL-DC (2×10^6 cells) を $1 \mu\text{M}$ の各 CpG で刺激後 24 時間の培養上清中のマウス IFN- α および IL-6 濃度を ELISA で測定した。棒グラフは平均 \pm SEM を示す。

本データは、独立行政法人医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト 石井 健 先生、青枝 大貴 先生 との共同研究の成果としてご恵与頂きました。

(in vivo アッセイ)

in vitro アッセイと同様にまずエンドキシンプリー水でストック溶液を調製し、抗原溶液に必要な量の D35

Et-Free ストック溶液を加えて混合した後、長時間置かずに投与する。ワクチンアジュバントとしてマウスに使用する場合は $10 \mu\text{g}/\text{mouse}$ (必要に応じて $1 \sim 100 \mu\text{g}/\text{mouse}$) を目安に投与する。

■ **参考文献**

- 1: Ishii KJ, Gursel I, Gursel M, Klinman DM. Immunotherapeutic utility of stimulatory and suppressive oligodeoxynucleotides. *Curr Opin Mol Ther.* 2004 Apr;6(2):166-74
- 2: Verthelyi D, Ishii KJ, Gursel M, Takeshita F, Klinman DM. Human peripheral blood cells differentially recognize and respond to two distinct CPG motifs. *J Immunol.* 2001 Feb 15;166(4):2372-7

■ **関連商品**

カタログ番号	クラス	製品名称	製品内容	供給量
CN-65001	A	D35 Et-Free	部分 S 化 DNA	10 mg
CN-65002		D3(GC) Et-Free	D35 のコントロール用	10 mg
CN-65003	B	K3 Et-Free	全体 S 化 DNA	10 mg
CN-65004		K3(GC) Et-Free	K3 のコントロール用	10 mg

※ Et-Free: エンドキシンプリーの略称です。
(0.5 EU/mg 以下を保証)

■ **注意事項**

本製品は研究用試薬のため、臨床応用に用いることはできません。臨床応用に関しましては、別途お問い合わせください。

テクニカルサポート
株式会社ジーンデザイン
tel: 072-640-5180
e-mail: info@genedesign.co.jp