

免疫研究におけるグリッド付温度応答性細胞培養器材 RepCell® の利用

細胞回収のための細胞培養ディッシュとして利用されている UpCell® ですが、トリプシンなどのタンパク質分解酵素フリーで細胞が回収可能なことから、細胞の生理活性を維持、細胞表面の受容体、フローサイトメーターの抗原タンパク質が高度に保持されるという特徴があります。

近年注目されている癌免疫療法では、樹状細胞やマクロファージなど種々の免疫細胞が使用されています。これらの細胞の一部は培養容器に強く接着しているため、細胞を回収する際に長時間のトリプシン処理などで細胞がダメージを受けることが有ります。

本レポートでは、これらの免疫細胞の培養・回収にグリッド付温度応答性細胞培養器材 RepCell® を使用する事により、細胞の生理活性を高度に保持した状態での回収の実例を紹介します。



アプリケーション

1

成熟樹状細胞の回収における

グリッド付温度応答性細胞培養器材 RepCell® の有効性

癌免疫療法において、生理活性の高い成熟樹状細胞を効率よく回収する事が重要である。しかしながら、OK-432 (ピシバニール) 等により成熟した樹状細胞は、種々の接着因子が発現しており、培養皿からの剥離が困難だった。RepCell® により回収した成熟樹状細胞は、細胞表面抗原である CD86 および CD83 を高度に保持しており、また高い IL-12 産生能を保持していることがわかった。細胞表面抗原 CD86 は、活性化 T 細胞や B 細胞と抗原提示細胞との相互作用における必須因子であることが報告されている。これらの結果から、RepCell® により回収された樹状細胞は、高い効果を持つことが期待される。

RepCell® およびトリプシン処理による成熟樹状細胞の回収率

方法

- ① ヒトパフィーコートに PBS により希釈し、リンホセパール I (免疫生物学研究所) に重層させた後、400xg、30 分間遠心。中間層の PBMC 画分を分取し、PBS を加えて、同様の条件で 3 回遠心。
- ② 分離した PBMC を 24 時間培養し、浮遊細胞を吸引除去。GM-CSF および IL-4 を加えて、5 日間培養し、未熟樹状細胞へ誘導。
- ③ 回収した未熟樹状細胞を RepCell® (a) または一般の培養容器 (b、ここではファルコン プライマリアカルチャーウェアを使用) に播種。OK-432 (ピシバニール) を加え、48 時間培養し、成熟化。
- ④ a. RepCell® : RepCell® 上で培養した細胞は、4°C の PBS を加え、室温 (25°C) で 5 分静置後、ピペッティングにより浮遊細胞を回収。
b. トリプシン処理 : 0.25% トリプシン -1mM EDTA を加え、37°C で 5 分静置後、ピペッティングにより浮遊細胞を回収。
- ⑤ 細胞数および生存率を計測。

結果

RepCell® およびトリプシン処理により回収した樹状細胞の生存率はいずれも同等だったが、回収率については RepCell® では約 90% だったが、トリプシン処理では 40% 程度であった。このことから RepCell® により高い回収率が得られることがわかった。

