

Nerve-Cell Culture System :神経細胞 培養方法

本プロトコールの手順により、初代神経細胞の分散培養系を構成できます。液体窒素保存で安定ですので、到着次第、液体窒素内へ移してください。

細胞の分散・培養には、**神経細胞分散液セット**(注文 Cat.No.: MB-X9901D)と**神経細胞培養液**(注文 Cat.No.: MB-X9501D)が必要です。

■ 解凍・洗浄操作 ■

- ① 液体窒素から神経細胞(注文 Cat.No.: MB-X*****)を取り出し、室温で30分間静置しながら解凍する。
- ② 神経細胞分散液セット(注文 Cat.No.: MB-X9901D)の「酵素液:Enzyme Solution」, 「分散液::Dispersion Solution」, 「除去液:Isolation Solution」を37°Cの温浴中で加温、解凍する。
- ③ 15mLの遠心管に、4mLのハンクス液(Hank's Balanced Salt Solutions:HBSS)を加えておく。
- ④ 神経細胞が解凍されれば、上清を除き、バイアルにHBSSを静かに1mL加える。
- ⑤ 操作③の遠心管に、操作④のHBSS 1mLを組織片とともに静かに移す。
- ⑥ 5分間静置後、300rpmで1分間遠心する。
- ⑦ 上清を除き、5mLのHBSSを加える。この時に、底に沈んでいる組織片が少し“泳ぐ”ように加える。
- ⑧ 5分間静置後、300rpmで1分間遠心する。

■ 分散操作 ■

- ⑨ 上清を除き、「**酵素液:Enzyme Solution 2.5mL**」を加え、37°Cで20分間静置する。
- ⑩ 泡立でないように、ゆっくりとピペッティングにより沈殿を分散する。
- ⑪ 900rpmで5分間遠心する。
- ⑫ 上清を除き、「**分散液::Dispersion Solution 2.5mL**」を加え、泡立でないように、ゆっくりとピペッティングにより沈殿を分散する。
- ⑬ 「**除去液:Isolation Solution 2.5mL**」を遠心管底部に加えて、分散した細胞液(分散液)を上層、加えた除去液を下層とする分離した二液層を作る。
- ⑭ 900rpmで5分間遠心する。
- ⑮ 上清を除き、「**神経細胞培養液**」で細胞を懸濁し、実験に適した細胞数に調製する。
- ⑯ ポリリジンコート培養器具で培養する。
(ポリオルニチン、ラミニンなどでも良好に培養できます。)

※グリア細胞等の増殖が多い場合は、AraCなどを添加してください。

CEL-1/0807D

【お問い合わせ先】

大日本住友製薬グループ

DSファーマバイオメディカル株式会社

(受注・発注/学術のお問い合わせ先)

〒564-0053 大阪府吹田市江の木町33-94

TEL 06-6386-2164 FAX 06-6337-1606

URL: <http://www.dspbio.co.jp>

E-メール: labopro@bio.ds-pharma.co.jp