

## 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**と**神経細胞培養液**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.: SBMBX\*\*\*\*\*)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 泡立てないように、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、泡立てないように、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。

株式会社ケー・イー・シー  
試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町2丁目1-20

(お問い合わせ窓口)

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

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

E-mail: [cs-info@kacnet.co.jp](mailto:cs-info@kacnet.co.jp)