



Accutase®を使用した NSCs, ニューロスフィア培養継代プロトコール

製品名 : Accutase

CATALOG#: AT104

形 式 : 100 ml ready-to-use 滅菌済凍結液体

品質管理 : 1. USP メンブレン濾過法による滅菌テスト済
2. 組織培養用プラスチック容器からの細胞剥離テスト済

成 分 : 1 × ACCUTASE 酵素を 0.5 mM EDTA · 4Na および 3mg/L Phenol Red を含む
Dulbecco's PBS で溶解
(Dulbecco's PBS : KCl 0.2 g/l, KH₂PO₄ 0.2 g/l, NaCl 8 g/l, Na₂HPO₄ 1.15 g/l)

安 定 性 : -20°Cで安定

各ロットの使用期限をご覧ください。製品到着後、-20°Cで保存してください。

解凍後 2 ヶ月以内は 4°Cで保存可能です。室温では保存しないでください。

Accutase、Accumax の正しい解凍方法と保存のためのヒント は弊社ウェブサイトをご覧ください。

細胞を取り扱う作業は、クリーンベンチ内などの適切な無菌環境で行ってください。

ヒトまたはラット接着 NSCs (神経幹細胞) 継代手順

1. 細胞培養ディッシュから上清を取り除きます。
2. 2mL の Accutase®を培養ディッシュに加えます。
3. 単一の細胞が丸味を帯びてくるまで 37°Cで (2-5 分間) インキュベートします。
4. ディッシュをリンスし、細胞をプレート表面から液中に洗いこみます。
5. 15mL コニカルチューブに細胞懸濁液を移します。穏やかにピペティングをし、細胞をシングルセルにします。
6. 8mL の培地でディッシュをリンスし、懸濁液を 5. のコニカルチューブに加えます。
7. 20uL の液をとり、細胞濃度をカウントします。
8. 200g で 4 分、コニカルチューブを遠心します。
9. 上清を吸引し、新しい培地で再懸濁し、培養用ディッシュにまいてください。38°Cの加湿 CO₂ 4-6% CO₂ インキュベーター内で培養を行います。

ヒトまたはラットニューロスフィア培養細胞の継代手順

1. 培養ディッシュから細胞懸濁液を 15mL コニカルチューブに移します。
2. ニューロスフィアをチューブの中で沈下させます (2-5 分) あるいは、100g で 1 分遠心します。
3. ニューロスフィアがチューブの底に沈殿させたまま、培地をゆっくり吸引します。培地は最終 100uL 程度残します。
4. ニューロスフィアを 5mL DPBS で再懸濁します。
5. ニューロスフィアをチューブの中で沈下させます (2-5 分) あるいは、100g で 1 分遠心します。
6. ニューロスフィアがチューブの底に沈殿させたまま、DPBS をゆっくり吸引します。DPBS は最終 100uL 程度残します。

7. 1mL の Accutase を加え、10 分間室温で静置します。
8. 適切なサイズのチップ（たとえば 1000uL）を使ったピペッティングによって、ニューロスフィアをシングルセルにします。
9. 4mL の新しい培地をチューブに加えます。
10. 200g で 4 分間遠心します。
11. ゆっくりと上清を吸引します。
12. 新しい培地で再懸濁し、新しい培養ディッシュにうつします。36-38°C の加湿 CO2 インキュベーター（4%-6%）で培養します。