

従来のB-27から新しい B-27 Plus Neuronal Culture System への移行

成功のためのプロトコルガイダンス

25年以上にわたり、“従来の” Gibco™ B-27™ Supplementは、*in vitro*での神経細胞培養環境を改善することにより研究をサポートしてきました。長年、研究者はプロトコルとワークフローを変更することで、細胞培養システムの性能を最適化してきました。現在は、Gibco™ B-27™ Plus Neuronal Culture System (Gibco™ B-27 Plus Supplement + Gibco™ Neurobasal™ Plus Medium) を用いることで、神経細胞培養ワークフローを効率化することができます。このシステムは、簡単なプロトコルで実験の信頼性および一貫性の向上を支援し、神経細胞の生存率を従来のB-27 サプリメント より50%以上向上させます。

本稿は、B-27 Plus システムによる初代神経細胞培養の成功を確実にするためのガイダンスを提供することを目的としています。この新しい培養システムは、以下の主な利点を提供します：

- 従来のB-27 サプリメントと比べて、低い播種密度における神経細胞の健全性を改善し、細胞生存延長をサポート (ガイダンス #1)
- 血清などの追加のコンポーネントの必要性を排除または低減 (ガイダンス #2)

ガイダンス #1.必要な細胞数を低減：低い播種密度での神経細胞の健全性を改善

Gibco™ B-27 Plus サプリメントは、Gibco™ Neurobasal™ Plus 培地との組み合わせにおいて、従来のB-27 サプリメント添加Gibco™ Neurobasal™ 培地に比べて最大50%以上の初代神経細胞生存率を提供します。そのため、B-27 Plus システムで神経細胞を播種する場合、従来のB-27 サプリメント添加 Neurobasal 培地を使用するよりも、ウェルあたりの必要な細胞数が少なく済みます。B-27 サプリメントから B-27 Plus システムに切り替える場合に推奨される播種神経細胞数は、以下を参照してください (表1)。細胞数が少なくても、B-27 Plus システムは神経細胞の生存率および質を向上するようにデザインされています (図1)。

表1. 初代神経細胞に推奨される播種密度

ソース	培地	播種密度		
		低 (cells/cm ²)	中 (cells/cm ²)	MEA アプリケーション 高 (cells/drop)
ラット	B-27 classic*	≥ 40,000	≥ 90,000	160,000
	B-27 Plus システム**	20,000	60,000	80,000
マウス	B-27 classic*	≥ 60,000	≥ 100,000	120,000
	B-27 Plus システム	30,000	60,000	60,000
フィード添加スケジュール： (半量交換が推奨されます)		週1～2回	3～4日おき	2～3日おき

* B-27 classic = B-27 サプリメント添加 Neurobasal 培地

** B-27 Plus システム = B-27 Plus サプリメント添加 Neurobasal Plus 培地

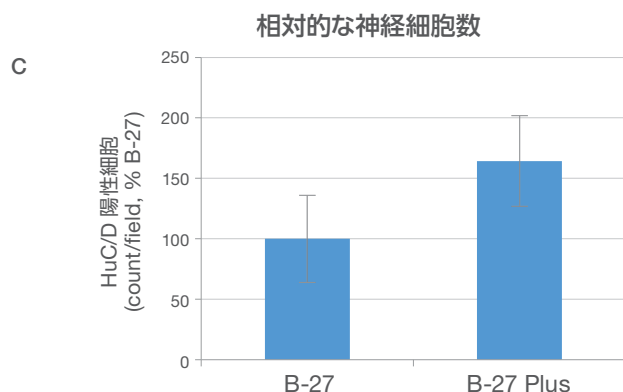
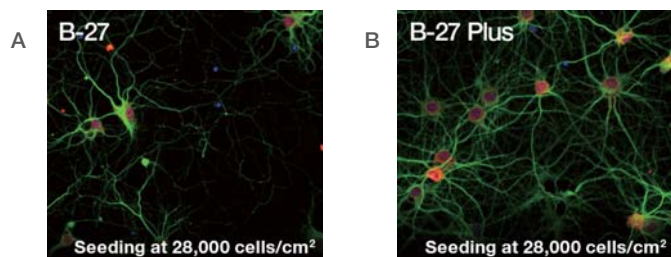


図1. 少ない細胞数で初代神経細胞の生存率および質が向上: 培養14日目のマウス皮質由来神経細胞 細胞は 28,000 cells/cm² の密度で播種し、(A) 従来の B-27 サプリメント添加 Neurobasal 培地 または (B) B-27 Plus システム (B-27 Plus サプリメント添加 Neurobasal Plus 培地) で維持しました。神経細胞数 (C) は、Thermo Scientific™ Studio™ Cell Analysis Softwareを搭載した Thermo Scientific™ CellInsight™ CX5 HCS Platformでの自動画像取得および解析によって決定されました。神経細胞は、MAP2 (緑色) およびHuC/D (赤色) に対する抗体で染色しました。核は、Invitrogen™ Hoechst 33342 (青色) で標識しました。

ガイドランス #2.追加のコンポーネントの必要性を排除

B-27 Plus システムを使用する場合、血清は必要ありません。初代神経細胞培養液から血清を取り除くことで、コストおよびプロトコルの煩雑さが低減し、より確実な実験結果が得られるというベネフィットが得られます。B-27 Plus システムを使用する場合、生存率、神経突起伸長、および神経ネットワーク活性の改善が見られるため、血清の使用を回避することを強く推奨します。

詳細はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/b27plus

研究用にのみ使用できます。診断目的およびその手続上での使用はできません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

For Research Use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

B-27 is a trademark of Southern Illinois University.

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますので予めご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc

サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ jptech@thermofisher.com

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan)

[@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

[thermofisher.com](https://www.thermofisher.com)

電気生理学的活性

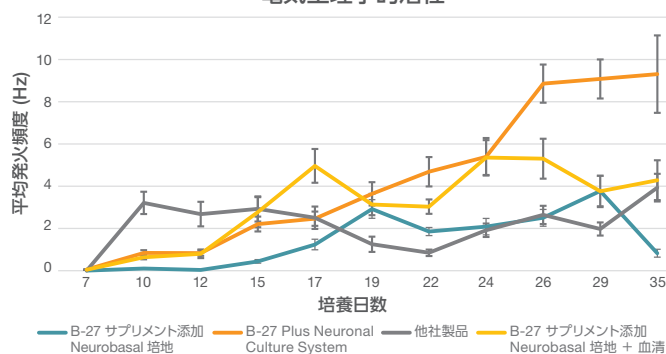


図2. B-27 Plus システムは、従来の B-27 サプリメント に血清を併用した場合と比べて電気生理学的活性の改善を促進 B-27 Plus システム (オレンジ色) では、平均発火頻度による定量的解析結果に示されているように、ネットワークが成熟するのに伴い発火活性の上昇が促進されました。神経ネットワークの興奮性は、平均発火頻度により定量化され、1秒間に検出された活動電位の総数として定義されました。

Axion Biosystemsの科学者が、(凍結保存した) ラット皮質由来初代神経細胞で、マルチ電極アレイ (MEA) 解析 (図2) を実施したところ、B-27 Plus システムで維持された神経細胞において、従来のB-27 サプリメント添加 Neurobasal 培地に血清を併用した場合と比べて、一貫して優れた、高品質な電気生理学的記録が示されました。

培養における違いの観察

B-27 Plus システムのベネフィットは、初代神経細胞において通常1〜3週間以内に神経細胞生存率の向上、神経突起伸長の加速、ならびに神経ネットワーク活性および成熟の改善が観察されることです。上記のプロトコルガイドランスおよびB-27 Plus Neuronal Culture System プロトコル (thermofisher.com/b27plus) に従って、初代神経細胞培養におけるこれらのベネフィットを観察してください。

ベネフィットが見られる時期	
主なベネフィット	典型的時期
神経細胞生存率の向上	2週間以降
神経突起伸長	1週間以内
機能的な神経ネットワーク活性 (MEA)	2〜3週間以上

販売店

GIB083-A1809OB

ThermoFisher
SCIENTIFIC