

ReproNeuro カルシウムイメージング測定 Ver1.1

提供 慶應義塾大学理工学部
生命情報学科
生物物理・神経情報研究室
塩谷 晃弘 様
岡 浩太郎 教授

7.5x10⁴ cells/cm²)。ガラスボトムの部分にのみ細胞懸濁液を加えて、半日から1日後に Maturation medium を追加する。

- 1.3. 培地交換は、3, 7, 14, 21 日目に半量の培地を交換する。
- 1.4. 測定は、14 日から 21 日の間に実施する。

実験スケジュール

day	-1	0	3	7	14	...	21
コーティング	●						
培地調製		●					
解凍・播種		●					
培地交換			●	●	●		●
測定					●	●	●

必要試薬

- ReproNeuro [ReproCELL, RCESDN001, RCESDN002, RCDN002N, RCDN003P]
- ReproNeuro Maturation Medium [RCESDN303]
- Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) [Life Technologies Corporation, 14025-076]
- Dimethyl Sulfoxide (DMSO) [Nacalai, 13407-45]
- Fluo-8 (Ex/Em : 490 nm/514 nm) [ABD Bioquest, 21081]
(5 mM となるように DMSO に溶解し Fluo-8 溶液とする。Fluo-8 溶液は分注して冷凍保存可能)
- 35 mm グリッド付きガラスボトムディッシュ [Matsunami, D111505]

2. Fluo-8 の導入

- 2.1. 200 μ L の Maturation medium に 1/1000 量の Fluo-8 溶液 (5 mM) を加えて Fluo-8 溶液 (5 μ M) を作製する。
- 2.2. ガラスボトムディッシュから培地を取り除き、(2.1) で作成した Fluo-8 溶液 (5 μ M) を 200 μ L 加える。
- 2.3. 37℃、40 分間、インキュベートする。
- 2.4. インキュベート後、培地を取り除き、2 mL の HBSS を加える。
- 2.5. HBSS を取り除き、再度 2 mL の HBSS を加える。
- 2.6. HBSS を取り除き、再度 2 mL の HBSS を加える。
- 2.7. 37℃、15 分間、インキュベート後、観察を実施する。

株式会社リプロセル
Website: <https://www.reprocell.com>
E-mail: info_jp@reprocell.com

測定機器

- 共焦点レーザー走査型顕微鏡 [オリンパス, FLUOVIEW FV1000 IX81]
- 対物レンズ [オリンパス, UPLSAPO 40 x oil]

操作手順

1. ReproNeuro の播種

- 1.1. プロトコルに従ってコーティングしたグリッド付きガラスベースディッシュを準備する。
- 1.2. ReproNeuro を上記のディッシュに播種する (播種密度は