

改良無血清合成培地を用いたマウス小脳培養系-プルキンエ細胞培養法

東京都神経科学総合研究所・脳構造 木村-黒田純子、永田功

2005年2月19日 神経組織培養研究会

我々は、環境化学物質の神経細胞への影響を調べることを目的に、安定で高感度なスクリーニング系の開発を試みた。その結果、比較的難しいとされているプルキンエ細胞の安定で簡便な培養方法を確立したので紹介したい。

プルキンエ細胞培養のポイント (詳細はreference1~3を参照)

動物のage マウスではembryo 18~post 1がベスト。

組織の摘出 迅速に冷やしながらかき出し。一度に大量の動物を処理しない。

酵素処理 proteaseはpapain (Worthington)がよい。

至適濃度,反応温度や時間、ピペティングは穏やかに。

無血清培地 目的によって、基礎培地、添加成分は要検討。我々はDMEM/F12(GIBCO)を基礎培地に、insulin,transferrin, NaSe, T4, antibiotics (以上SIGMA, for tissue culture)を含んだ培地を基本的に使用。

Coating剤 poly-L-lysine (MW.30,000~70,000, P-9155, SIGMA)がベスト。

培養容器 プラスチック製 (Nunc chamber slideなど)が簡単だが目的によって変更可能。なるべく新しい物を使い、コーティングもなるべく日数をおかないで使用。

References

1. J. Kimura-Kuroda, I. Nagata, M. Negishi-Kato and Y. Kuroda, Thyroid hormone-dependent development of mouse cerebellar Purkinje cells in vitro, *Brain Res Dev Brain Res*, 137 (2002) 55-65.
2. S. Furuya, A. Makino and Y. Hirabayashi, An improved method for culturing cerebellar Purkinje cells with differentiated dendrites under a mixed monolayer setting, *Brain Res Brain Res Protoc*, 3 (1998) 192-198.
3. T. Tabata, S. Sawada, K. Araki, Y. Bono, S. Furuya and M. Kano, A reliable method for culture of dissociated mouse cerebellar cells enriched for Purkinje neurons, *J Neurosci Methods*, 104 (2000) 45-53.
4. S. Furuya, T. Tabata, J. Mitoma, K. Yamada, M. Yamasaki, A. Makino, T. Yamamoto, M. Watanabe, M. Kano and Y. Hirabayashi, L-serine and glycine serve as major astroglia-derived trophic factors for cerebellar Purkinje neurons, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 (2000) 11528-11533.
5. H. Heuer and C.A. Mason, Thyroid hormone induces cerebellar Purkinje cell dendritic development via the thyroid hormone receptor alpha1, *J Neurosci*, 23 (2003) 10604-10612.
6. J. Kimura-Kuroda, I. Nagata and Y. Kuroda, Hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls inhibit thyroid-hormone-dependent extension of cerebellar Purkinje cell dendrites, *Brain Res Dev Brain Res*, 154 (2005) 259-263.

Junko Kimura-Kuroda (email: jkkuro@tmin.ac.jp)