

## 大鼠浦肯野细胞

Cat NO.: CP-R319

### 一、产品简介

1. 产品名称：大鼠浦肯野细胞
2. 组织来源：小脑组织
3. 细胞简介：

大鼠浦肯野细胞分离自小脑皮质组织；小脑的表面被覆着一层灰质，叫小脑皮质，小脑皮质分为3层，从表及里分别为分子层、浦肯野细胞层和颗粒细胞层。皮质里含有星状细胞、篮状细胞、浦肯野细胞、高尔基细胞和颗粒细胞等5种神经元。浦肯野细胞发出的轴突组成小脑皮质唯一的传出纤维，终止于小脑白质内的神经核。浦肯野细胞(Purkinje cell)是从小脑皮质发出的唯一能够传出冲动的神经元。人的小脑皮质约有1500万个浦肯野细胞。浦肯野细胞还广泛分布于心室。显著的电生理特点是传导性强，传导速度快，可达4000mm/s。属快反应自律型细胞，具有舒张期自动除极化的性能，因而有自律性，但自律性强度明显低于窦房结P细胞。这类细胞常常平行排列，细胞内电阻低，只有心室细胞的1/3。小脑：浦肯野细胞是小脑皮质中最大的神经元，细胞体呈梨形，顶端发出2~3条粗大的主树突，向外伸入分子层。主树突沿途分支繁茂，形如展开的、扁薄的扇形，铺展在与小脑叶片长轴垂直的平面上。树突分支上有大量的树突棘，与传入纤维构成广泛的突触联系，接受传入小脑的全部信息。轴突由细胞底部(与主树突相对方向)发出，细长，离开胞体不远便形成有髓神经纤维，向内经颗粒层离开皮质进入白质，组成小脑皮质唯一的传出纤维，终止于小脑内部的神经核团。一个浦肯野细胞的轴突约形成500个终末膨大，约与小脑深部核团的35个神经元形成突触。心脏浦肯野细胞常常平行排列，几个细胞互相以浆膜连接排成一个小束，小束外包绕着基底膜。细胞内含肌原纤维很少，胞浆区内充满糖原颗粒、线粒体和肌浆网，细胞内电阻低，只有心室细胞的1/3。浦肯野细胞内无横管系统，但膜电容比收缩细胞大，可能是由于其闰盘结构广泛而复杂，提供了较大的表面积的缘故。浦肯野细胞闰盘的主要成分是缝隙连接，粒着膜占的比例很少，这些可能是构成浦肯野细胞传导快的形态学基础。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠浦肯野细胞采用胰蛋白酶消化法结合神经元专用培养基、化学试剂抑制法筛选制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$ cells/瓶

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的大鼠浦肯野细胞经Neph3免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

### 6. 培养信息：

包被条件	PLL(0.1mg/ml)
培养基	含脂质浓缩液、BSA、Monothioglycerol、Transferrin、Penicillin、Strep

网站: [www.procell.com.cn](http://www.procell.com.cn)

电话: 400-999-2100

邮箱: [techsupport@procell.com.cn](mailto:techsupport@procell.com.cn)

地址: 湖北省武汉市高新大道858号生物医药产业园三期C4栋



Rev.V1.0

	tomycin等
产品货号	CM-R319
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	神经元细胞样
传代特性	不增殖；不传代
传代比例	不传代
消化液	0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

大鼠浦肯野细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

大鼠浦肯野细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈神经元细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞不增殖；不传代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。

### 2. 神经元细胞消化一

1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS（37℃ 预热）清洗细胞一次；

2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液0.5mL至培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，37℃ 温浴1min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5ml完全培养基终止消化；

3) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；

4) 待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按换液频率更换新鲜的完全培养基（37℃ 预热）。

### 3. 神经元细胞消化二

1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；

2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液0.5mL至培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，4℃ 冰箱静置5min；消化后倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5ml完全培养基终止消化；



- 3)用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
- 4)待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基(37℃ 预热)。

#### 4. 细胞收货脱落

- 1)收集所有细胞悬液，1000rpm，离心5min，保留沉淀；
- 2)添加0.25%胰蛋白酶消化液0.5mL至离心管中，重悬沉淀，放置于37℃ 消化3min(或4℃ 冰箱静置5-7min)；消化完向离心管内加入5ml完全培养基终止消化；
- 3)经1000rpm，离心5min，丢弃上清，用5ml完全培养基(补加1%FBS，促进贴壁)重悬沉淀，接种于新的培养瓶内；
- 4)待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基(37℃ 预热)。

#### 5. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原（2-5 μg/cm<sup>2</sup>），多聚赖氨酸PLL（0.1mg/ml），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

1. 培养基于4℃ 条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

##### 特殊注意事项

6. 神经元细胞贴壁不牢，必须包被培养器皿；细胞遇冷易收缩脱落，所用试剂需37℃ 预热，室温观察时间不宜过长。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

