

## 大鼠脊髓神经元细胞

Cat NO.: CP-R144

### 一、产品简介

1. 产品名称：大鼠脊髓神经元细胞
2. 组织来源：脊髓组织
3. 细胞简介：

大鼠脊髓神经元细胞分离自脊髓组织；脊髓是细细的管束状的神经结构，位于脊柱的椎管内且被脊椎保护；是源自脑的中枢神经系统延伸部分。中枢神经系统的细胞依靠复杂的联系来处理传递信息。脊髓的主要功能是传送脑与外周之间的神经信息。人和脊椎动物中枢神经系统的一部分，在椎管里面，上端连接延髓，两旁发出成对的神经，分布到四肢、体壁和内脏。脊髓的内部有一个H形(蝴蝶型)灰质区，主要由神经细胞构成；在灰质区周围为白质区，主要由有髓神经纤维组成；脊髓是许多简单反射的中枢。脊髓两旁发出许多成对的神经(称为脊神经)分布到全身皮肤、肌肉和内脏器官。脊髓是周围神经与脑之间的通路，也是许多简单反射活动的低级中枢。按脊神经的出入可把脊髓也分为相应的31节，31对脊神经就是由不同的脊椎发出的。神经系统最基本的结构和功能单位是神经元，即神经细胞，其大小和外观在中枢神经系统中差异很大。但都具有胞体和树突、轴突。胞体又叫核周体，内含神经丝、微管、内质网、游离核糖体和一个有明显核仁的核。一些大神经元突起的粗面内质网可用Nissl染色显示，在光镜下是灰蓝色斑块状，称为尼氏小体。树突和轴突是神经元的突起，能在神经元之间传递电冲动，突起的大小和形态各不相同，很难用常规的显微镜鉴别。脊髓组织内含有大量胶质细胞，神经元含量少，分离纯化难度大，且脊髓神经元细胞是高度分化的终末细胞，不能分裂增殖，培养要求高。刚接种的脊髓神经元呈圆形，体积小，透亮，无突起。培养2-3d，可见胞体增大，突起增多延长；培养6-7d，细胞体大饱满，突起明显增加延长并交织成网，光晕明显，立体感强。培养20d后，死亡细胞明显增加，细胞出现内空泡，突起粗细不均，甚至脱壁，发生细胞崩解。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠脊髓神经元细胞采用胶原酶-胰酶联合消化法、神经元专用培养基培养筛选结合化学试剂抑制法制备而来，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脊髓神经元细胞经-Tubulin-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B-27 Supplement、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-R144
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	属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群
传代比例	不传代
消化液	0.125%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

大鼠脊髓神经元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

大鼠脊髓神经元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，细胞属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群；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. 静置后，显微镜下观察细胞状态，拍照记录细胞的贴壁情况，漂浮的细胞需离心收集后在离心管消化(脱落细胞处理方式)，贴壁细胞也需消化后与脱落的细胞合并一起后重新接种。

### 3. 神经元细胞消化

- 1) 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞(1200rpm 5min)，细胞沉淀按照下面脱落细胞处理方式处理该部分细胞；
- 2) 培养瓶内贴壁细胞，用PBS(37℃ 预热)清洗细胞一次，将PBS收集到步骤1的离心管中，不要直接丢弃；
- 3) 添加0.125%胰蛋白酶消化液(0.25%胰酶用PBS稀释一倍) 1mL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，放入4℃ 冰箱消化细胞3-5min(或者37℃ 温浴1min)；
- 4) 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(稀释法终止消化，培养基用量不低于5ml)；
- 5) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，1200rpm 5min 离心去除残留胰酶；
- 6) 去掉上清，加入适量的完全培养基混匀(可补加1%FBS，促进贴壁)，接种于孔板中(提前多聚赖氨酸包被孔板)；



7) 待细胞贴壁后可用于后续相关实验。

#### 4. 细胞收货脱落

- 1) 收集所有细胞悬液，1200rpm 5min离心，保留沉淀；
- 2) 添加0.125%胰蛋白酶消化液(0.25%胰酶用PBS稀释一倍)1mL至离心管中，轻柔重悬沉淀，放置4 冰箱静置3-5min)；
- 3) 消化完向离心管内加入5ml完全培养基终止消化；
- 4) 经1200rpm，离心5min，丢弃上清，用5ml完全培养基(可补加1%FBS，促进贴壁)重悬沉淀，接种于新的培养瓶内；
- 5) 接种后绝对静置24-48小时，48小时后观察，否则细胞容易聚团。

#### 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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），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

