

## 兔脊髓神经元细胞

### 基本信息

- 产品名称：兔脊髓神经元细胞
- 产品品牌：纪宁生物
- 组织来源：脊髓组织
- 产品规格：5×10<sup>5</sup>cells/T 25 细胞培养瓶

### 细胞简介

兔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。

## 方法简介

纪宁生物实验室分离的兔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。

## 质量检测

纪宁生物实验室分离的兔脊髓神经元细胞经  $\beta$ -Tubulin-III 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。

## 培养信息

培养基：含 B-27 Supplement、Penicillin、Streptomycin 等

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：0.25% 胰蛋白酶

培养条件：气相：空气，95%；CO<sub>2</sub>，5%

兔脊髓神经元细胞体外培养周期有限；建议使用纪宁生物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。

## 细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 使用方法

兔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，在纪宁生物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 T 25 细胞培养瓶，用 75% 酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入 37°C、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(1200rpm5min)，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°C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)1m L 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°C 冰箱消化细胞 3-5min(或者 37°C 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)1m L 至离心管中，轻柔重悬沉淀，放置 4°C 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 I（2-5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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。

## 注意事项

### 上海纪宁生物细胞仅供科研实验使用

1. 培养基于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下可保存 3-6 个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 传代培养过程中，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，便于和纪宁生物技术部沟通。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。

