

## 人神经干细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-H-00203
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	人神经干细胞分离自脑组织；神经干细胞(neural stem cell)是指存在于神经系统中,具有分化为神经神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的潜能,从而能够产生大量脑细胞组织,并能进行自我更新,并足以提供大量脑组织细胞的细胞群。是一类具有分裂潜能和自更新能力的母细胞,它可以通过不对等的分裂方式产生神经组织的各类细胞。需要强调的是,在脑脊髓等所有神经组织中,不同的神经干细胞类型产生的子代细胞种类不同,分布也不同。
分离方法及质量控制 methods and quality control	本公司生产的人神经干细胞采用混合胶原酶消化制备而来,细胞总量约为 5×10 <sup>5</sup> cells,细胞经 Nestin 免疫荧光鉴定,细胞纯度可达 85%以上,且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<b>细胞专用培养基组分</b> : 基础培养基; 胎牛血清; 细胞生长因子; 青霉素/链霉素溶液 (备注: 每种组分单独包装, 使用前需要按比例分装, 详细操作详见说明书, 现用现配, 效果更佳。) <b>推荐专用培养基货号</b> : <b>PCM-H-174</b>  <b>无血清细胞冻存液</b> : <b>CSP077</b>  <b>温度</b> : 37°C <b>气相</b> : 95%空气, 5%二氧化碳
培养特性 Culture Properties	悬浮
细胞复苏 Cell Thawing	<b>注意: 1. 低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</b> <b>2. 提前室温预热培养基。</b> 1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基; 2. 将冻存管放入 37°C 水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75% 乙醇, 移至无菌区; 3. 小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min; 4. 弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶(建议加液量: 5~7ml); 5. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要(如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。 6. 将培养瓶放入 CO <sub>2</sub> 培养箱中培养。
细胞传代 Subculturing	收到细胞后, 请按照以下方法进行操作。 <b>注意: 该细胞为悬浮细胞, 切勿直接倒掉培养液, 需离心细胞悬液来收集细胞。</b> 1、收到细胞后, 75%酒精消毒, 显微镜下观察细胞状态, T25 方瓶中培养基体积为 20ml, 若细胞密度大于 1×10 <sup>6</sup> /ml, 可进行传代; 2、传代分为 2 种方法: (1) 一种为离心换液法, 1200rpm 离心 5min, 弃掉上清, 将细胞沉淀用新鲜培养基轻轻吹打悬浮, 转移至含新鲜培养基的培养瓶中;

	<p>(2) 另一种为直接补液法, 直接在原有培养瓶中补加新鲜培养基。细胞推荐培养密度为 <math>1 \times 10^5/\text{ml} - 2 \times 10^5/\text{ml}</math>, 当细胞密度大于 <math>8 \times 10^5/\text{ml} - 1 \times 10^6/\text{ml}</math> 时, 则需要传代, 传代建议按照 1:2 比例进行。</p> <p><b>注: 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</b></p> <p><b>2. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</b></p>
<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</li> <li>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中, 1000rpm, 5 分钟离心收集培养细胞沉淀, 彻底弃去离心管中的上清液。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中, 使细胞浓度约为 <math>5 \times 10^5 - 1 \times 10^7 /\text{ml}</math>。轻柔地混匀细胞, 制成细胞混合液。</li> <li>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中, 建议每管 1ml 或 1.5ml。</li> <li>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 超低温冰箱中, 可长期冷冻保存。</li> <li>7. 如果想液氮中长期保存, 需先放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 冰箱至少一天时间, 方可移至液氮罐中保存。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液 (货号: CSP077) 推荐。</li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件: 液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研, 不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p><b>所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护</b></p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85% 左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
<p>备注 additional information</p>	<p><b>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。</b></p> <p><b>原代细胞体外培养周期非常有限, 请尽快及时安排实验。</b></p> <p><b>建议中乔新舟配套的专用细胞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。</b></p>