

## 原代小鼠三叉神经元细胞

货号: PRI-MOU-00170

### I 产品说明

|      |                                                             |
|------|-------------------------------------------------------------|
| 英文名称 | Mouse trigeminal neuron cells                               |
| 细胞名称 | 原代小鼠三叉神经元细胞                                                 |
| 细胞形态 | 神经元细胞样                                                      |
| 生长特性 | 贴壁                                                          |
|      | 基础培养基; 添加物等                                                 |
| 培养方案 | 推荐完全培养基, 中乔新舟货号: PCM-M-170;<br>培养环境: 95%空气+5%二氧化碳, 温度: 37°C |
| 冻存条件 | 推荐冻存液 (中乔新舟货号: CSP042)                                      |
| 质量检测 | 经 NSE 免疫荧光鉴定, 纯度达 90%以上;<br>不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等 |
| 消化特性 | 不建议传代, 建议收到细胞后尽快进行相关实验                                      |
| 换液频率 | 2-3 次/周                                                     |
| 产品规格 | 干冰运输, $5 \times 10^5$ cells/冻存管*1 支;                        |
| 储存温度 | 活细胞: 37°C;<br>冻存管: -196°C                                   |



## I 参考资料

### 细胞背景描述

小鼠三叉神经元细胞分离自脑组织；三叉神经为十二对脑神经之中的第五对脑神经，是混合性脑神经之一。三叉神经由两种纤维成分所组成。一种是一般躯体感觉纤维，其神经元胞体位于颅中窝颞骨岩部三叉神经压迹处、由假单极神经元组成的三叉神经节内。三叉神经节的中枢突组成三叉神经感觉根，在脑干脑桥臂和脑桥基底部交界处入脑，传到头面部触觉的神经纤维终止于三叉神经脑桥核，传到温觉、痛觉的神经纤维终止于三叉神经脊束核。另一种纤维是特殊内脏运动纤维，起源于特殊内脏运动核之中的三叉神经运动核，三叉神经运动核发出来的特殊内脏运动纤维成分组成三叉神经运动根，从脑桥臂和基底部交界处出脑，纤维成分加入到三叉神经第三大分支下颌神经内支配咀嚼肌等肌肉的运动。

|        |        |
|--------|--------|
| 组织来源   | 脑组织    |
| 种属     | 小鼠     |
| 形态     | 神经元细胞样 |
| 生物安全等级 | BSL-1  |
| 供应限制   | 仅供科研使用 |

## I 文献奖励

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：原代小鼠三叉神经元细胞(PRI-MOU-00170)由上海中乔新舟生物科技有限公司提供；
- 发表[英文论文]请标注：Mouse trigeminal neuron cells ( PRI-MOU-00170)were kindly provided by Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd." 或 "ZQXZbio"

### 获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击快速查询，选择文献奖励，即可查看文献奖励详细规则；
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

**\*\*活动最终解释权归中乔新舟生物所有\*\***



## I 细胞培养操作方法

### 【注意事项】

#### 培养须知

- 如自行配置其他完全培养基进行复苏、培养、消化、可能会导致细胞复苏不贴壁，细胞增殖慢，形态改变，倍增次数减少等情况，我司将不负责此类问题的售后，请熟知。
- 贴壁的原代细胞在复苏时或者消化后转移至新容器需要对新的培养器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，包被条件常选用多聚赖氨酸 PLL (0.1 mg/mL)。
- 神经元细胞消化吹打要轻柔；离心转速为低速 900rpm/3min，接种密度要控制太密太稀都会影响细胞树突的伸展。

**\*\*此细胞不建议传代，请收到细胞后尽快进行相关实验！\*\***

#### 复苏步骤

1. 培养板包被:使用 0.1mg/mL 的多聚赖氨酸(PLL)溶液覆盖培养表面(如 6 孔板每孔约 1-2mL)。确保液体覆盖均匀，避免干涸。包被时间至少 30 分钟，过夜(4°C)效果更佳；
2. 提前将无血清专用神经元培养基加入培养皿/孔板中，放入培养箱(预热以及平衡 PH)。将水浴锅调至 37°C，将冻存管取出后放入水浴锅，持续轻柔摇晃。待冻存液完全融化(约 2 分钟内)后，然后快速取出，喷洒酒精，转移至超净工作台；
3. 用一次性吸管吸取 1ml 处理好的培养基加入冻存管，混匀后轻柔转移至含预处理的无血清专用神经元培养基的离心管或培养容器中。轻柔吹打混匀 2-3 次(避免产生大量气泡)。将细胞悬液直接接种到 PLL 包被好的培养板中。轻柔十字晃动培养板使细胞分布均匀，将细胞放入培养箱。(6 孔板根据实验需求可接种 2-3 个孔)；
4. 接种 30 分钟后，观察细胞状态，此时可见细胞基本都贴壁。吸弃含有冻存液 DMSO 和少量死细胞的旧培养基。轻柔加入预处理的无血清专用神经元培养基(或你所用的特定无血清培养基)；
5. 次日:在显微镜下应能看到细胞开始伸出少量短小突触。第 3-7 天:细胞形态展开，突触连接增多，网络初步形成，是观察和拍照的良好时机。维持培养:及时补液即可。

细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行消化，具体步骤如下：

#### 细胞消化

1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；
2. 将 Accutase 细胞消化液、细胞完全培养基、终止液/含 10%FBS 其它培养基（用于终止液）置于室温平衡。
3. 弃去培养瓶中培养基，用 5ml 无钙镁离子 PBS 缓冲液（中乔新货号：ZQ-1300）清洗细胞层，尽量去除液体后加入 1ml 的 Accutase 细胞消化液 37°C 消化 1~3min 至细胞变圆（建议每隔 1min 在显微镜下观察细胞的消化情况），用手轻拍瓶尾成流沙样脱落；脱落率约 80%。
4. 此时,立即加入 3-5ml 终止液/其他完培培养基（含 10%血清）终止消化，轻柔吹打瓶内 3-6 下，将细胞悬液转移到 15ml 离心管，约 900rpm，室温离心 3min；
5. 弃上清，用手指弹松细胞沉淀，加入新鲜完全培养基接种于孔板中(提前多聚赖氨酸包被孔板)；待细胞贴壁后可用于后续相关实验。



## I 到货操作指南

### 活细胞

1. 收到细胞，请拍 40X、100X、200X 各 2-3 张照片；
2. 用 75%酒精擦拭瓶身，封口膜可以不用撕去，满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作；悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置，贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置，在此期间，请查看说明书以确定细胞属性；
3. **贴壁细胞**：观察细胞密度约 80%则可正常消化处理（有的原代细胞不可传代，请仔细阅读细胞说明书并根据实际情况决定）；观察细胞密度若细胞密度不到 80%，建议更换新鲜完全培养基再培养 1 天后根据密度进行处理；
4. **悬浮细胞**：观察细胞密度，分瓶(5-7mL/瓶完全培养基（一般出库时可以保证 1:2）；
5. **半悬半贴细胞**：先收集上清悬浮细胞再消化贴壁细胞(部分细胞不能胰酶进行消化，请仔细阅读细胞说明书并根据实际情况决定)。

注：

- 原代/永生化细胞请提前做好完培；细胞系产品若您没有备合适的培养基：可取出原瓶多余培养基(小部分细胞可能需要额外补足血清)，离心去除细胞碎片后 4℃冰箱保存，可作为应急使用；
- 建议在首次消化成功、细胞状态稳定后，立即冻存备份 2-3 支冻存管，以备后续实验使用，防止因意外丢失。
- 到货发现有任何异常现象，污染，漏液，请及时拍照并反馈。

### 冻存管

1. 收到冻管，查看干冰量，冻管外观是否正常；
2. 若计划 7 天内复苏：可暂将细胞管存放于-80℃ 冰箱；计划超过 7 天复苏或长期保存：务必将细胞管转移至液氮罐中长期存储；

注：若出现冻管外观异常，请拍照并反馈。

**部分细胞由于贴壁松散，会出现运输后漂浮，冬天气温低时也会出现细胞收缩漂浮，属于不可避免因素，正确处理后可以正常生长**

### 贴壁细胞漂浮的处理方法

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，3-5min）去除旧培养基；
2. 用 PBS 重悬细胞，将所有细胞收集到一个离心管中，再次离心（1200rpm，3-5min）去除 PBS；
3. 加入 1mL 左右含有 EDTA 的 0.25%胰酶重悬细胞，混匀即可，建议震动离心管混匀，避免吹打细胞，放入培养箱消化细胞，根据细胞特性决定消化时间（TM3、TM4、293 系列约 1~2 分钟）；  
注：部分细胞不能使用胰酶消化，请注意查看细胞说明书；单颗漂浮的细胞不需要胰酶处理。
4. 消化好后，用移液枪轻轻吹打细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入 3-5mL 含血清的培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm，3min）去除胰酶；
5. 加入 5mL 左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中；
6. 显微镜下观察细胞是否成均匀分散的单细胞，若有 3-5 个成团的小细胞团可不用重新消化，使之贴壁后待细胞生长稳定后再次消化消散细胞。

