

## 小鼠小脑颗粒细胞

Cat NO.: CP-M112

### 一、产品简介

1. 产品名称：小鼠小脑颗粒细胞
2. 组织来源：脑组织
3. 细胞简介：

小鼠小脑颗粒细胞分离自小脑皮层组织；神经元是神经系统最基本的结构与功能单位，小脑颗粒神经元是体积较小的神经元，直径约10 μm，在中枢神经系统中含量非常丰富，近乎神经元数量的一半。由于小脑神经元的生长、分化和大脑皮层神经元相似，而且数量多、便于取材，因此小脑颗粒神经元是研究神经元生长发育、神经轴突再生及神经疾病发生机制和临床神经药理的重要手段。小脑颗粒神经元是小脑主要的中间神经元，在哺乳动物的小脑内数量最为丰富。颗粒神经元的轴突与苔状纤维和爬行纤维相联系，形成小脑皮层内的神经元环路，在小脑的神经活动中起着非常重要的作用。在动物传染性海绵状脑病中，病变可波及小脑颗粒神经元，导致小脑皮层的神经元环路受损，从而呈现神经性行为失调。研究小脑颗粒神经元在动物传染性海绵状脑病理学变化中的反应、病理发生的机理特别是分子机理，有赖于小脑颗粒神经元细胞模型的建立。小脑颗粒细胞的轴突是沿冠状轴分布的平行纤维，正是这种排列保证了兴奋的单向传导，这是小脑功能理论中的关键假设，小脑颗粒细胞通过g-氨基丁酸接受戈尔吉细胞的抑制性突触的信息传入。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的小鼠小脑颗粒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小鼠小脑颗粒细胞经NSE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、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-M112
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%



小鼠小脑颗粒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

小鼠小脑颗粒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. 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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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

