

NeuroEasy 人神经干细胞培养试剂盒说明书

V1.0 版本，更新日期：2019 年 1 月 10 日

货号：CA2305100

规格：1 Kit

储存条件：基础培养基 2 ~ 8℃，添加剂 -80 ~ -20℃；混匀后 2 ~ 8℃，4 周内使用完毕。

产品简介：

NeuroEasy 人神经干细胞培养试剂盒是赛贝生物（Cellapy）针对由人源 iPSC/ESC 诱导分化的神经干细胞研发的产品，具有纯度高、自我更新和多向分化潜能等特点。

产品内容：

组份代码	名称	规格	数量
CA2302100-1	NeuroEasy 人神经干细胞复苏接种基础培养基	100mL	1 瓶
CA2302100-2	NeuroEasy 人神经干细胞复苏接种添加剂	2mL	1 瓶
CA2303100-1	NeuroEasy 人神经干细胞维持基础培养基	100mL	1 瓶
CA2303100-2	NeuroEasy 人神经干细胞维持添加剂	2mL	1 瓶
CA2304050	NeuroEasy 人神经干细胞消化液	50mL	1 瓶

需要材料：

- NeuroEasy 人神经干细胞复苏接种培养基（Cellapy：Cat. CA2302100）
- NeuroEasy 人神经干细胞维持培养基（Cellapy：Cat. CA2303100）
- NeuroEasy 人神经干细胞消化液（Cellapy：Cat. CA2304050）
- 细胞培养级无钙镁的 PBS 溶液（Hyclone：Cat. SH30256.01）

培养材料准备：

- 神经干细胞复苏接种完全培养基：在室温解冻神经干细胞复苏接种添加剂，吹打混匀，随后将2mL添加剂加入100mL神经干细胞复苏接种基础培养基形成完全培养基。神经干细胞复苏接种完全培养基可在2 ~ 8℃稳定储存4周。
- 神经干细胞维持完全培养基：在室温解冻神经干细胞复苏接种添加剂，吹打混匀，随后将2mL添加剂加入100mL神经干细胞维持基础培养基形成完全培养基。神经干细胞维持完全培养基可在2 ~ 8℃稳定储存4周。

注意：人神经干细胞复苏接种及维持添加剂室温解冻，可按实际用量对添加剂进行分装，分装后重新置于-80 ~ -20℃保存，避免反复冻融。

细胞复苏：

1. 室温平衡人神经干细胞复苏接种完全培养基
2. 37℃水浴解冻细胞，小心摇晃使细胞融化至仅剩一小块冰晶，迅速取出并用75%酒精消毒冻存管外表面，转移至无菌操作台中。
3. 将细胞悬液转移至新的15mL离心管中，缓慢加入4mL人神经干细胞复苏接种完全培养基，轻柔吹吸2次混匀。
4. 1000rpm离心5分钟。
5. 弃上清，加入适量人神经干细胞复苏接种完全培养基重悬细胞，轻柔吹吸2次混匀，并接种到准备好的培养皿中，显微镜下观察细胞。
6. 37℃恒温CO₂细胞培养箱中培养24小时。
7. 显微镜下观察细胞已由单细胞长成圆形小球。
8. 收集含有神经球的上清至15mL离心管中，1000rpm离心2分钟。
9. 弃上清，加入适量的人神经干细胞维持培养基。
10. 放入37℃恒温CO₂细胞培养箱，2-3天换一次人神经干细胞维持培养基。

神经干细胞传代接种：

1. 显微镜下观察当球体较大，中心略微发黑时需要进行神经球传代。
2. 室温平衡人神经干细胞复苏接种完全培养基。
3. 吸含有神经球的培养基至15mL离心管中，使用无钙镁的PBS冲洗一次加入离心管中。
4. 1000rpm离心2分钟。
5. 弃上清，加入4mL无钙镁PBS重悬神经球。
6. 1000rpm离心2分钟。
7. 弃上清，在离心管中加入人神经干细胞消化液1mL至离心管中，将离心管盖子旋紧，横放于37℃培养箱中消化5-10分钟左右。
8. 轻轻摇动离心管，当神经球成为单细胞，肉眼观察球状物存留较少或没有时，即可终止消化。
9. 1000rpm离心5分钟。
10. 弃上清，在离心管中加入适量神经干细胞复苏接种完全培养基，重悬细胞接种至合适的皿中。
11. 37℃恒温CO₂细胞培养箱中培养24小时。
12. 显微镜下观察细胞已由单细胞长成圆形小球。
13. 收集含有细胞的上清至15mL离心管中，1000rpm离心2分钟。
14. 弃上清，加入适量的人神经干细胞维持培养基。
15. 放入37℃恒温CO₂细胞培养箱。当球体较大，中心略微发黑时重复以上消化操作。