

NeuroEasy 人神经干细胞诱导培养试剂盒说明书

V1.0 版本，更新日期：2019 年 1 月 10 日

货号：CA2306100

规格：100mL

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 人神经干细胞诱导培养试剂盒是赛贝生物（Cellapy）针对由人源 iPSC/ESC 诱导分化神经干细胞研发的产品，具有高效，快速，易操作等特点。

产品内容：

组份代码	名称	规格	数量
CA2306100-1	NeuroEasy 人神经干细胞诱导基础培养基	100mL	1 瓶
CA2306100-2	NeuroEasy 人神经干细胞诱导添加剂	1mL	2 支
CA2304050	NeuroEasy 人神经干细胞消化液	50mL	1 瓶

需要材料：

- NeuroEasy 人神经干细胞诱导培养基（Cellapy：Cat. CA2306100）
- 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：

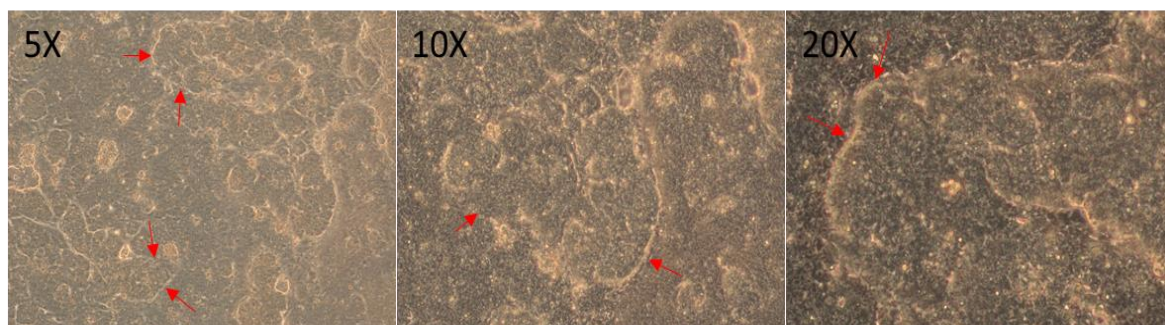
- 人神经干细胞诱导完全培养基：在室温解冻人神经干细胞分化添加剂，吹打混匀，随后将 2mL 添加剂加入 100mL 神经干细胞诱导基础培养基形成完全培养基。神经干细胞诱导完全培养基可在 2 ~ 8℃ 稳定储存 4 周。

注意：人神经干细胞诱导添加剂室温解冻，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。

诱导分化：

1. 弃去 iPSC/ESC 培养基，在培养皿中加入适量无钙镁的 PBS 溶液清洗；
2. 弃去 PBS 溶液，加入人神经干细胞诱导完全培养基 4mL/孔（6 孔板），放入 5%CO₂ 的 37℃ 恒温细胞培养箱中培养；

- 每天观察细胞，第三天如果液体发黄，补加2mL培养基；
- 显微镜下观察出现多个散在的Rosette(凸起状)结构，即诱导结束；



- 使用无钙镁的PBS冲洗细胞，加入2mL人神经干细胞消化液，37℃消化5 ~ 15 min, 待细胞变圆，收集细胞于15mL离心管。
- 1000rpm离心5分钟。
- 弃上清，用人神经干细胞复苏传代培养基重悬细胞，接种到适合的皿中。
- 放入培养箱中培养24小时。
- 显微镜下可观察到悬浮神经球。
- 1000rpm离心2分钟，收集神经球，用人神经干细胞维持培养基重悬，接种培养，2-3天换一次液。

消化传代：

- 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。
- 室温平衡人神经干细胞复苏接种完全培养基。
- 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。
- 1000rpm 离心 2 分钟。
- 弃上清，加入 4mL 无钙镁 PBS 重悬神经球。
- 1000rpm 离心 2 分钟。
- 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。
- 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。