

NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）说明书

V1.9 版本，更新日期：2022 年 12 月 7 日

货号：CA2301106

规格： 1×10^6

储存条件：活细胞储存于 $25^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ ，收到

后请立即放入 CO_2 培养箱。

冻存细胞暂存于 -80°C 冰箱，2 周有效期；液氮

储存，6 个月有效期。



扫描二维码，关注微信公众号即可查看产品说明书、视频教程、产品相关论文下载

（如果您有什么其他问题，可联系相关销售或拨打下方联系电话咨询）

联系电话：010—69737398

产品简介：

NeuroEasy 人神经干细胞是赛贝生物推出的一款即用型人神经干细胞，该细胞是使用 NeuroEasy 人神经干细胞诱导培养试剂盒将 hESC/hiPSC 细胞进行诱导分化获得，其具备人神经干细胞的典型特性，具有正常人类染色体核型，同时具有高纯度和高扩增能力，且可以分化为神经元细胞、少突胶质细胞和星形胶质细胞等。NeuroEasy 人神经干细胞可以使用悬浮和贴壁两种培养方式，本文介绍的是贴壁培养方法。

产品内容：

组份代码	名称	规格	数量
CA2301106	NeuroEasy 人神经干细胞	1×10^6	1

需要材料：

- NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）复苏接种培养基（Cellapy: Cat. CA2311100）
- NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）维持培养基（Cellapy: Cat. CA2312100）
- NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）消化液（Cellapy: Cat. CA2313050）
- 细胞培养级无钙镁的 PBS 溶液（Hyclone: Cat. SH30256.01）

培养材料准备：

- NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）复苏接种完全培养基：在室温解冻神经干细胞复苏接种（贴壁培养）添加剂，吹打混匀，随后将 1mL 添加剂加入 100mL 神经干细胞（贴壁培养）复苏接种基础培养基形成完全培养基。神经干细胞（贴壁培养）复苏接种完全培养基可在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 稳定储存 4 周。
- NeuroEasy 人神经干细胞（贴壁培养）维持完全培养基：在室温解冻神经干细胞（贴壁培养）维持添加剂，吹打混匀，随后将 1mL 添加剂加入 100mL 神经干细胞（贴壁培养）维持基础培养基形成完全培养基。神经干细胞（贴壁培养）维持完全培养基可在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 稳定储存 4 周。

注意：神经干细胞（贴壁培养）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. 室温平衡人贴壁神经干细胞（贴壁培养）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（贴壁培养）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（贴壁培养）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. 弃上清，加入适量的人神经干细胞（贴壁培养）维持培养基。
8. 放入 37℃恒温 CO₂细胞培养箱，2-3 天换一次人神经干细胞（贴壁培养）维持培养基。
9. 显微镜下观察细胞汇合度达到 100%即可传代。

贴壁人神经干细胞传代(6孔板1个孔细胞为例)：

注：建议长满后按1：3传代

1. 室温平衡NeuroEasy人神经干细胞（贴壁培养）复苏接种完全培养基。
2. 吸去培养皿中上清液，加入无钙镁的PBS清洗培养皿。
3. 弃上清，使用无钙镁的PBS冲洗细胞，加入1mL/孔（6孔板）人神经干细胞(贴壁培养)消化液，37℃消化5 ~ 15 min, 待细胞变圆成单细胞，使用2mL人神经干细胞(贴壁培养)维持培养基终止消化，收集细胞于15mL离心管（消化细胞时需要将细胞彻底消化下来，切不可消化不充分而使用移液器暴力吹打）。
4. 1000rpm离心5分钟。
5. 弃上清，在离心管中加入适量神经干细胞(贴壁培养)复苏接种完全培养基，重悬细胞接种至合适的皿中，并使细胞均匀分布。
6. 37℃恒温二氧化碳细胞培养箱中培养 24 小时。
7. 次日显微镜下可观察到细胞均匀贴壁在培养皿中。
8. 弃上清，更换成人神经干细胞(贴壁培养)维持培养基，一般维持培养基可以 3 天换液一次。
9. 显微镜下观察细胞汇合度达到 100%即可冻存/传代。

神经干细胞冻存：

1. 室温平衡人神经干细胞（贴壁培养）复苏接种完全培养基。
2. 吸去培养皿中上清液，加入无钙镁的PBS清洗培养皿。
3. 弃上清，使用无钙镁的PBS冲洗细胞，加入1mL/孔（6孔板）人神经干细胞(贴壁培养)消化液，37℃消化5 ~ 15 min, 待细胞变圆成单细胞，使用2mL人神经干细胞(贴壁培养)维持培养基终止消化，收集细胞于15mL离心管（消化细胞时需要将细胞彻底消化下来，切不可消化不充分而使用移液器暴力吹打）。取出培养皿，加入等体积神经干细胞（贴壁培养）复苏接种完全培养基终止消化，用移液器将贴壁细胞吹打下来，收集于15mL离心管中。
4. 1000rpm离心5分钟。
5. 弃上清，在离心管中加入FrozenEasy无血清细胞冻存液（CA1013100），重悬细胞分装至冻存管中。
6. 不使用程序化降温盒，直接放入-80度冰箱冻存细胞即可。
7. 24小时以后可将细胞取出放入液氮中长期储存。