大鼠皮层神经元细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-RK007

产品描述

大鼠皮层神经元细胞是指从动物大脑的皮质区域中直接分离和培养出的神经元。神经元，又称神经细胞，是大脑皮质区域的基本组成单位，也是构成神经系统结构和功能的基本单位。神经元是具有长突触（轴突）的细胞，它由细胞体和细胞突起构成。细胞体位于脑、脊髓和神经节中，细胞突起可延伸至全身各器官和组织中。具有信息传递和处理等重要功能。因此，原代皮质神经元常被用作细胞模型，用于探索缺血性脑卒中、阿尔茨海默病、帕金森病等方面的研究。

适用范围

该试剂盒适用于 Sprague-Dawley、Wistar-Imamichi 等孕 14.5 -17.5d 大鼠的原代大鼠皮层神经元细胞提取试剂盒。

规格

本试剂盒规格为 10 次（以 1 只胎鼠为 1 次计）

运输和存储条件

2-8 ℃保存与运输，保质期为参考下表。试剂开封后，有效期为 6-8 周，其中消化液有效期建议一周内尽快使用。

配套培养基信息

表 1. 分离培养试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-RK007A	大鼠皮层神经元细胞组织专用消化液 I	10 mL	-20°C,避光保存,1 个月
IMP-RK007B	大鼠皮层神经元细胞组织专用消化液 II	1 mL	-20°C,避光保存,1 个月
IMP-RK007C	大鼠皮层神经元细胞组织处理缓冲液	500 mL	2-8°C,避光保存,3 个月

IMP-RK007D	铺板工作液	30 mL	2-8°C,避光保存,3 个月
IMP-RK00701	大鼠皮层神经元细胞促贴壁完全培养基	100ml	2-8°C,避光保存,3 个月
IMP-RK00702	大鼠皮层神经元细胞专用完全培养基	500 mL	2-8°C,避光保存,3 个月

分离步骤

实验前准备：大鼠皮层神经元细胞组织专用消化液、大鼠皮层神经元细胞组织处理缓冲液、大鼠皮层神经元细胞专用完全培养基；实验需自备冰盘、PBS、含 10%FBS 完全培养基、手术器械、6cm/10cm 培养皿、70 μm 细胞筛、离心管若干。

一、大鼠皮层神经元细胞提取：下面以C57BL/6J 小鼠为例

1. 配鼠：实验开始前，于当天 18:00-19:00 时将雌、雄小鼠按 3:1 比例合笼。第 2 天 8:00 时分笼，并观察雌性小鼠有无阴栓，有阴栓确定为怀孕，记 0.5 d，并分开单独饲养。

2. 将铺板工作液加入到 T25 细胞培养瓶中（根据实验需求选择不同的规格培养皿/瓶铺板），每个瓶加入 2-3ml 晃动，铺满底部。过夜，洗 2-3 次（六孔板每孔 1-1.5mL；12 孔板每孔 0.5-1mL；大皿 3-4mL）。

3. 取孕 17.5 d 小鼠,断颈处死，置于体积分数为 75%酒精消毒3 min。无菌打开孕鼠腹腔，可见腹腔两侧呈“V”字型串珠样子宫，用镊子提起子宫(不能碰到皮毛，以防污染)，并用眼科剪去除子宫系膜和结缔组织，剥离子宫。将子宫放入含有组织处理缓冲液的一次性无菌培养皿中，漂洗两三遍，去除淤血。

4. 根据胚胎数量配制专用消化液。例如 5 只胎鼠，取 5ml 大鼠皮层神经元细胞组织专用消化液 I 与 0.5mL 大鼠皮层神经元细胞组织专用消化液 II 混合，配置成专用消化液。

5. 用眼科剪和镊子去除胎盘、羊膜等胚胎外组织，取出胚胎放入另一平皿，用组织处理缓冲液洗涤，直到没有血迹为止。

6. 用尖头镊剥离胎鼠头部及脑壳，取出脑子黑色画圈部分，放入中皿，用组织处理缓冲液洗涤 1 次。

7. 将一个脑移至一个新的中皿（两三个脑子用一个中皿，防止太久大鼠皮层神经元细胞组织处理缓冲液升温），在解剖镜下去除脑膜、嗅球（绿色的那部分）、小脑及两个大脑半球中间的连接物，将剥干净的大鼠皮层放入新的中皿。

8. 全部剥完后，轻轻吸走大鼠皮层神经元细胞组织处理缓冲液，用镊子夹碎或手术刀片切碎脑袋至浆糊状，每个脑子加入 1ml **专用消化液**，五个脑子一组，吹打均匀后，放入大皿中消化37℃、12min。

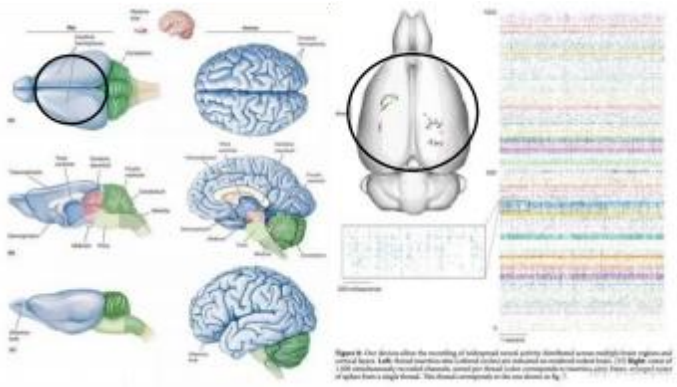
9. 立即加入等量的配好的含 10%FBS 的**复温**培养基，用 5ml 枪头吹打 12 下。

10. 将终止消化后的溶液，用 70 μm 细胞筛过滤。

11. 1000g 离心 5min,去除上清，以每个脑子加入 1ml 配好的大鼠皮层神经元细胞促贴壁完全培养基重悬。吹打均匀后，用台盼蓝计数。每个 T25 瓶种 2.0-2.4*10^6 个细胞（六孔板每孔 1.0-1.2*10^6 个；12 孔板每孔 5-6*10^5 个；大皿 1.2-1.5*10^7 个）。37℃、5% CO2 培养箱中培养。

12. 种板 4 小时左右换液（半量换液），此时用大鼠皮层神经元细胞专用完全培养基。

13. 此后，每 3 天换一次液（半量换液）。



注意事项

1. 全程分离操作过程建议在冰上进行，分离大鼠皮层神经元细胞时应避免过度消化、过度重悬等操作导致细胞损伤。

2. 大鼠皮层神经元细胞**不建议消化传代培养**。

3. 大鼠皮层神经元细胞专用消化液、培养基中含有微生物生长所需的营养成分，请在超净工作台内打开，按照所需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。