

# 神经干/祖细胞(NSPC)扩增培养基说明书

Cat NO: IMI-SP01AM

## 产品描述

神经干/祖细胞(NSPC)扩增培养基是一种适用于人类神经干/祖细胞（Human Stem/progenitor Cell, hNSPC），无血清，无动物源成分的完全培养基，hNSPC 在本培养基中可以稳定增殖，同时细胞标志物表达正常（Nestin+/ SOX2 + / SOX1 +），适用于体外研究。

## 产品信息

表 1. NSPC 扩增培养基组成信息

| 产品货号        | 产品名称               | 产品规格   | 储存           |
|-------------|--------------------|--------|--------------|
| IMI-SP01BM2 | NSPC 扩增基础培养基       | 200 mL | 2℃-8℃， 12 个月 |
| IMI-SP01AMA | NSPC 扩增培养基补充剂（25×） | 8 mL   | -20℃， 6 个月   |

注：括号内容如 25×为母液浓度，使用时终浓度需为 1×。例如 NSPC 扩增培养基补充剂（25×）需添加进 NSPC 扩增基础培养基使其稀释 25 倍，使得补充剂终浓度为 1×，配成 NSPC 扩增培养基。

## 实验试剂与材料

表 2. 推荐试剂&材料

| 试剂&材料                     | 品牌（e.g.） | 货号（e.g.）  |
|---------------------------|----------|-----------|
| Y-27632                   | 逸漠生物     | IMC-014-Y |
| DMEM/F12 培养基              | 逸漠生物     | IMC-205   |
| Accutase                  | STEMCELL | 07920     |
| 神经细胞无血清冻存液                | 逸漠生物     | IMC-704   |
| PBS                       | 逸漠生物     | IMC-401   |
| 低吸附 6 孔细胞培养板              | CORNING  | 3471      |
| 15 mL/50 mL 离心管           | 硕华生物     | N/A       |
| 10 μL/200 μL/1000 μL 无菌吸头 | 佳顺生物     | N/A       |
| 10mL/50mL 移液管             | NEST     | N/A       |

## 实验内容与方法（以 6 孔板 1 个孔为例）

### 一、完全培养基配制

- (1) 在 4℃解冻 NSPC 扩增培养基补充剂（25×），不要在 37℃条件下解冻。
- (2) 在生物安全柜中，按照实验用量，例如若用量为 50 mL，配制方法为 48 mL NSPC 扩增基础培养基+2mL NSPC 扩增培养基补充剂（25×）配成 NSPC 扩增培养基。
- (3) 分化培养基建议现配现用，置于 4℃储存，2 周内使用。

注：补充剂可根据使用量进行分装以避免反复冻融。

### 二、NSPC 复苏

- (1) 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL NSPC 扩增培养基（含 10 μMY-27632）混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL NSPC 扩增培养基（含 10 μMY-27632）后吹匀。
- (2) 将所有细胞悬液加入含适量 NSPC 扩增培养基（含 10 μMY-27632）的低吸附六孔板（1 孔）或低吸附 35mm 皿中培养过夜。
- (3) 24h 后，100g 离心弃去上清，换成不含Y-27632 的 NSPC 扩增培养基，视培养基颜色或隔 2 天半量换液。

### 三、NSPC 传代

当神经球直径达 100-150 μm 时，即可进行传代培养。

- (1) 100g 离心弃去上清，加入 1-2 mL Accutase（含 10 μMY-27632），置于 37℃水浴消化 10-15 min。
- (2) 10-15 min 后每孔加入等量 NSPC 扩增培养基，轻轻敲打细胞，使细胞解离成小团块或单细胞。
- (3) 将细胞悬液收集到 15 mL 离心管中，室温下 300 g 离心 5 min。
- (4) 仔细抽吸上清液，不干扰细胞，用 1mL 恢复室温的 NSPC 扩增培养基重悬细胞，轻轻地上下移液以确保细胞溶液均匀。
- (5) 使用自动细胞计数器计数细胞，使用台盼蓝排除死亡细胞，使用 NSPC 扩增培养基稀释细胞，将细胞以  $5 \times 10^5/\text{mL}$ （或 1:2-1:3 比例）接种到低吸附六孔板中。

注：①当形成肉眼可见的神经球时，可将神经球摇晃至中心，缓慢倾斜一定角度，沿着液面缓慢弃去培养基，在不吸到神经球的情况下尽量将培养基吸尽，进行换液，尽量避免离心。②仅在复苏后培养第一天培养基需要加入 Y27632，后续传代培养基不需要添加。

#### 四、NSPC 冻存

待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

(6) 收集细胞及细胞培养液，装入离心管中，100g 离心5 min，弃上清液，加入 1 mL Accutase（含 10  $\mu$  MY-27632）水浴消化 15 min，。

(7) 根据细胞数量加入神经细胞无血清冻存液，使细胞密度  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7/\text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。

(8) 将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注：建议六孔板每孔 1 mL Accutase 消化。