

运动神经元祖细胞 (MNP) 维持培养基使用说明

Cat NO：IMI-MP01M

产品描述

运动神经元祖细胞(MNP)维持培养基是一种适用于人类运动神经元祖细胞（Human motor neuron progenitor, hMNP），无血清，无动物源成分的完全培养基，hMNP 在本培养基中可以持续存活并至少在 5 代内维持 Olig2 的高表达，适用于体外研究。

产品信息

表 1. MNP 维持培养基组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存
IMI-MP01M1	MNP 维持基础培养基	200 mL	2℃-8℃， 12 个月
IMI-MP01MA	MNP 维持培养基补充剂 A（200×）	1 mL	-20℃， 6 个月
IMI-MP01MB	MNP 维持培养基补充剂 B（50×）	4 mL	-20℃， 6 个月

注：括号内容如 200×为母液浓度，使用时终浓度需为 1×。例如 MNP 维持培养基补充剂 A（200×）以及补充剂 B（50×）需添加进 MNP 维持基础培养基使其分别稀释 200 倍和 50 倍，使得补充剂终浓度为 1×，配成 MNP 维持培养基。

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
6 孔细胞培养板	NEST	N/A
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

Matrigel	Corning	354277
----------	---------	--------

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 MNP 维持培养基补充剂 A（200×）、MNP 维持培养基补充剂 B（50×），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 48.75 mL MNP 维持基础培养基+0.25 mL MNP 维持培养基补充剂 A（200×）+1 mL MNP 维持培养基补充剂 B（50×）配成 MNP 维持培养基。
- (3) 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、MNP 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 4mL MNP 维持培养基（含 10 μM IMC-014-Y）混合均匀。在 300g 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL MNP 维持培养基（含 10 μM IMC-014-Y）后吹匀。
- (2) 将所有细胞悬液加入含适量 MNP 维持培养基（含 10 μM IMC-014-Y）的基质胶或 laminin 521 包被的六孔板（1 孔）中培养过夜。
- (3) 24h 后，换成不含IMC-014-Y 的 MNP 维持培养基，视培养基颜色或隔 2 天换液。

三、细胞传代（可按培养器皿底面积 1:6 比例接种传代）

- (1) 弃去培养基，每孔加入 1mL Accutase（含 10 μM IMC-014-Y），置于 37℃培养箱消化 4-5min。
- (2) 4-5 min 后每孔加入等量 MNP 维持培养基（含 10 μM IMC-014-Y），轻轻吹打细胞，使细胞解离成单细胞。
- (3) 将细胞悬液收集到 15 mL 离心管中，室温下 300 g 离心 3 min。
- (4) 仔细抽吸上清液，不干扰细胞，用 1mL 恢复室温的 MNP 维持培养基重悬细胞（含 10 μM IMC-014-Y），轻轻地上下移液以确保细胞溶液均匀。

(5) 使用MNP 维持培养基（含 $10\ \mu\text{M}$ IMC-014-Y）稀释细胞，以 **1:6** 比例（按底面积换算）接种到基质胶包被的六孔板或 35mm 皿中培养过夜。24h 后，换成不含IMC-014-Y 的 MNP 维持培养基，视培养基颜色或隔 2 天换液。