

运动神经元(MN)维持培养基使用说明

Cat NO: IMI-MN01M

产品描述

运动神经元(MN)维持培养基是一种适用于人类运动神经元 (Human motor neuron, hMN)，无血清，无动物源成分的完全培养基，hMN 在本培养基中可以持续存活并成熟为表达 CHAT 的成熟 MN，适用于体外研究。

产品信息

表 1. MN 维持培养基组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存
IMI-MN01M1	MN 维持基础培养基	200 mL	2°C-8°C, 12 个月
IMI-MN01MA	MN 维持培养基补充剂 (50×)	4 mL	-20°C, 6 个月

注：括号内容如 50×为母液浓度，使用时终浓度需为 1×。例如 MN 维持培养基补充剂 (50×)需添加进 MN 维持基础培养基使其稀释 50 倍，使得补充剂终浓度为 1×, 配成 MN 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	-	IMC-014-Y
DMEM/F12 培养基	-	IMC-205
Accutase	STEMCELL	07920
神经细胞无血清冻存液	-	IMC-704
PBS	-	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 MN 维持培养基补充剂 (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 49 mL MN 维持基础培养基+1mL MN 维持培养基补充剂 (50×) 配成 MN 维持培养基。

(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、MN 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 MN 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 MN 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 MN 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 MN 维持培养基 (MN 贴壁不牢固, 换液动作需轻柔), 视培养基颜色或隔 2 天换液。

三、细胞传代（当有实验需求时可按培养器皿底面积 1:1 比例接种传代）

(1) 弃去培养基, 加入 1-2 mL Accutase (含 10 μM IMC-014-Y), 置于 37℃ 培养箱消化 2-5min。

(2) 2-5 min 后每孔加入等量 MN 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 MN 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 MN 维持培养基 (含 10 μM IMC-014-Y) 稀释细胞, 将细胞以 1:1 比例接种到基质胶或 laminin 521 包被的六孔板 (1 孔) 或 35mm 皿中培养过夜 (按底面积算, 1 个 T25 相当于六孔板 2.5 个孔, 六孔板 1 孔可传 12 孔板的 2 孔, 24 孔板的 4 孔, 96 孔

板的 6 孔)。24h 后，换成不含 IMC-014-Y 的 MN 维持培养基（MN 贴壁不牢固，换液动作需轻缓），视培养基颜色或隔 2 天换液。

注：①MN 不能扩增，尽量减少传代。