

**产品名称：兔神经干细胞**  
**产品货号：CYRab0163**



## 细胞背景介绍

兔神经干细胞分离自脑皮层组织；大脑分左右两个半球，大脑皮质（灰质）覆盖着每个大脑半球的大部分，它是神经元胞体集中的地方。内部则是由神经纤维或髓鞘构成的白质。每一个半球都有三个面，即外侧面（约占整个皮质面积的 1/3）、内侧面和底面（占 2/3 的面积）；半球表面有很多深浅不等的沟或裂，沟或裂之间的隆起叫回，它们大大增加了大脑的表面积；大脑外侧面重要的沟、裂有大脑外侧裂、顶枕裂和中央沟。由于三沟裂之界隔，使大脑皮质组分为额叶、顶叶、颞叶、枕叶四大部分。神经干细胞具有分化为神经神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的能力，能自我更新，并足以提供大量脑组织细胞的细胞群。神经干细胞是一类具有分裂潜能和自更新能力的母细胞，它可以通过不对等的分裂方式产生神经组织的各类细胞。需要强调的是，在脑脊髓等所有神经组织中，不同的神经干细胞类型产生的子代细胞种类不同，分布也不同。神经干细胞作为干细胞的一种，它具有其它所有干细胞的基本特征：具有自我维持和自我更新能力，具有多种分化潜能，具有分化为本系统大部分类型细胞的能力，这种自我更新和分化潜能可以维持相当长的时间甚至终生，对损伤和疾病具有反应能力。神经干细胞在疾病、损伤状态下具有增殖、迁移，并向神经细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞分化的能力，已成为神经系统损伤修复和再生研究的热点，体外建立稳定的神经干细胞培养模型是其基础和临床应用的前提。神经干细胞在培养 3-4d 后，可形成神经球，神经球在培养基中呈悬浮生长，予以更换半量培养基，1 周后用吸管轻柔吹打球形克隆成为小的神经球和单细胞悬液，将部分细胞接种到新的培养瓶中， $2 \times 10^5$  个细胞/瓶，每 7-10d 传代 1 次，每隔 3d 离心更换半量培养基 1 次，培养条件不变。

## 细胞分离方法简介

**组织来源：**脑组织

## 细胞质量检测

兔神经干细胞经 Nestin 免疫荧光鉴定，纯度可达 90% 以上，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

## 细胞培养信息

|        |                                                      |
|--------|------------------------------------------------------|
| 细胞培养基  | 含 B-27 Supplement、EGF、bFGF、Penicillin、Streptomycin 等 |
| 细胞生长特性 | 悬浮                                                   |
| 细胞形态   | 球形                                                   |
| 细胞换液频率 | 每 2-3 天换液一次                                          |
| 细胞传代特性 | 可传 2-3 代                                             |
| 细胞传代比例 | 1:2                                                  |
| 消化液    | 0.25% 胰蛋白酶，Accutase                                  |
| 细胞培养条件 | 空气，95%；二氧化碳，5%；温度，37℃                                |

**兔神经干细胞体外培养周期有限；建议使用本公司配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。**

## 细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 细胞使用方法

兔神经干细胞是一种悬浮细胞，细胞形态呈球形，在本公司技术部标准操作流程下，细胞可传 2-3 代。建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿

**产品名称：**兔神经干细胞  
**产品货号：**CYRab0163

等) 时, 需要对实验器皿进行包被, 以增强细胞贴壁性, 避免细胞因没贴好影响实验; 包被条件常选用鼠尾胶原 I (2-5 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) , 多聚赖氨酸 PLL (0.1mg/ml) , 明胶 (0.1%) , 依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

### 细胞收货后处理

该细胞为悬浮细胞, 切勿直接倒掉培养液, 需离心细胞悬液来收集细胞。

- 1) 取出 T25 细胞培养瓶, 用 75%酒精消毒瓶身, 拆下封口膜, 放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h, 以稳定细胞状态。
- 2) 收集 T25 细胞培养瓶中的培养基至 50mL 离心管中, 用 PBS 清洗细胞培养瓶 1-2 次, 收集清洗液;
- 3) 1200-1500rpm 离心 3min, 弃上清, 收集细胞沉淀;
- 4) 加入 5mL 新鲜完全培养基, 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞; 将分散好的细胞调整合适密度接种至培养器皿中, 置于 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养;
- 5) 若遇到悬浮细胞团块较大, 无法机械吹散时, 向步骤 2) 中细胞沉淀添加 0.25%胰蛋白酶消化液 2mL 至离心管中, 用吸-管轻轻吹打混匀, 37℃温浴 2-3min, 消化结束后, 加入胰酶抑制剂(或血清) 终止消化, 用吸管轻轻吹打, 分散细胞; 1200rpm 离心 5min, 弃上清, 收集细胞沉淀;
- 6) 加入 5mL 新鲜完全培养基, 用吸管轻轻吹打混匀; 按传代比例进行接种传代, 然后补充新鲜的完全培养基至 5mL, 置于 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养;
- 7) 待细胞状态稳定后, 培养观察, 用于实验; 之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

### 细胞冻存

- 1) 收集消化好的细胞到离心管中 1000rpm 离心 3-5min, 弃去上清;
- 2) 加入细胞冻存液重悬细胞, 将悬液加入到冻存管中;
- 3) 将冻存管放入梯度冻存盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中长期保存。

**备注：**由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同, 以上方法仅供各实验室参考。

## 细胞售后条例

### 一、细胞出现问题，可重发的情况有哪些？判定标准是什么？

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发；
2. 细胞污染问题，请在收到产品 3 天内，给我们提出真实的实验结果，核实后重发；
3. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后 2 天后，绝大多数细胞未存活，（需提供真实清晰的细胞状态照片），重发；
4. 干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后或常温发货的细胞静置 2 小时后并且未开封，出现污染，重发；（冻存细胞发货 2 支，两支细胞都存在污染，经核实后重发。）
5. 细胞活性问题，请在收到产品 7 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，和每天的细胞照片，核实后予重发；
6. 细胞收到当天以及第 2，3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题有提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。技术人员判定为双方承担责任的由双方进行协商处理或者按合同价的 50% 收费重发。

### 二、细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

1. 客户操作造成细胞污染，不重发；
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发；
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发；
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发；
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发；
6. 收到细胞并发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 7 天的，不重发；
7. 视具体情况而定。

### 三、细胞准确性

细胞出货时附带鉴定报告（细胞系随货提供纸质报告，原代细胞发货后 10 天内提供），如果客户对细胞的种类、纯度等特性有疑问，需在收到细胞后 2 个月之内提供相应的生物学实验检测结果作为依据，经供应商技术确定细胞确实有问题的，可进行相应处理，但只对细胞本身负责，不对客户进行其他补偿。

#### 备注：

1. 细胞售后需与技术支持确认，特殊情况需与上级申请。
2. 前期推广细胞时，在细胞自到货日起的 30 天内，可享受无条件售后。但需联系技术支持，并提供细胞图片。
3. 原代细胞售后视情况而定，且无一个月无条件售后。