

Neural-27 添加剂 (50X), 含维生素 A, 等同于 B-27

产品编号: PWL095 规格: 10 ml

产品内容

| 产品组成 | PWL095 |
|---------------------------------------|--------|
| Neural-27 添加剂 (50X), 含维生素 A, 等同于 B-27 | 10 ml |
| 说明书 | 1 份 |

产品简介

Neural-27 添加剂是一种经过优化的无血清添加剂, 用于支持胚胎、产后和成体的海马神经元和其他中枢神经系统 (CNS) 神经元的生长, 以及保持其短期或长期的活性。

Neural-27 添加剂以50X液体形式提供, 加入到合适的神经元基础培养基后, 一方面可用于基本单一化 (<0.5%胶质细胞) 的神经元的培养, 而无需使用星形胶质细胞饲养层, 以获得优化的活性和长期的存活率; 一方面可用于培养神经来源的肿瘤细胞系, 有效地保证其活性。在DMEM/F-12培养基中添加Neural-27 添加剂, 已被证明可支持扩增来自小鼠胚胎纹状体和中脑的EGF响应性的前体细胞。

此外, 货号为PWL043的Neural-27 添加剂 (50X), 去除维生素A, 适用于神经干细胞培养, 而防止其分化。

使用方法 (仅供参考)

一、神经元培养基的配制 (以50ml为例)

1. 于2-8℃过夜解冻本产品。

【注】如果不立即使用, 请分装并保存在-20℃, 避免反复冻融。

2. Neural-27 添加剂是50X浓度。用前请用神经元基础培养基稀释到1X。即将1ml的Neural-27 添加剂加入到49ml的基础培养基中, 再添加0.5 mM L-谷氨酰胺, 配制成神经元完全培养基。

3. 对于原代海马神经元培养, 神经元完全培养基需要额外补充25μM的L-谷氨酸, 培养第4天换液成不含L-谷氨酸的神经元完全培养基。

【注】配制好的完全培养基, 可于2-8℃避光保存一周。

二、细胞培养步骤

Welcome
to meilunbio

以下步骤经过大鼠胎儿原代海马和皮层神经元，以及神经母细胞瘤细胞系测试。

1. 预冷无菌0.05 mg/mL多聚赖氨酸水溶液，用其均匀包被培养器皿表面，室温下放置1 h。
2. 去除包被液，无菌水冲洗2-3次。在超净工作台中打开培养器皿盖子通风，直到完全干燥。干燥后可以立即使用或在2-8℃最多保存2周。
3. 根据实验室标准程序或细胞说明书，分离或复苏原代大鼠神经元。
4. 37℃预热神经元完全培养基，接种细胞，建议的细胞密度为160cells/mm²，或必要时使用自行优化的细胞密度。

【注】对于海马神经元，完全培养基中须添加25μM L-谷氨酸。

5. 置于37℃，5% CO₂的恒湿培养箱中培养。
6. 培养4-24小时后，更换一半体积的新鲜培养基，继续在培养箱中培养。
7. 对于海马神经元以外的细胞：在接种4天后，更换一半体积的新鲜的完全培养基，之后每三天重复一次。对于海马神经元：接种3天后，用不含L-谷氨酸的新鲜的完全培养基更换一半体积的培养基。之后每三天重复一次。

【注】在完全培养基中添加25μM β-巯基乙醇，可提高海马神经元的长期存活率。

三、分离原代大鼠胚胎神经元

以下步骤推荐用于受精18天的大鼠胚胎海马神经元和大脑皮层神经元的分离培养。

1. 从受精18天的大鼠胚胎中分离大脑皮层和双侧海马。
2. 在已添加了Hibernate-E完全培养基（每对海马2ml）的离心管中收集所有组织。静置一段时间，直到所有的组织都已解体。
3. 将组织沉在管底，然后去除上清液，只留下刚好可覆盖组织的少量培养基。
4. 在不含Ca²⁺的Hibernate-E培养基中，使用2mg/ml无菌的木瓜蛋白酶溶液（每对海马2ml），30℃酶解组织约30min，中间每隔5min轻摇离心管使组织分散。
5. 加入两倍体积的Hibernate-E完全培养基终止酶解。
6. 静置，将未解离的组织沉降至管底，然后把上清液转移到15 ml离心管中，以150×g离心5 min。
7. 用1ml神经元完全培养基重悬细胞沉淀，计数。然后按照“细胞培养步骤”的第4-7步骤进行。

保存条件

-20℃避光保存，12个月有效。

注意事项

1. 本品含有维生素A，如需培养神经干细胞，建议使用我司PWL043。
2. 本产品为无菌包装，请注意无菌取用。
3. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。