

## 小鼠三叉神经元细胞

Cat NO.: CP-M317

### 一、产品简介

1. 产品名称：小鼠三叉神经元细胞
2. 组织来源：三叉神经组织
3. 细胞简介：

小鼠三叉神经元细胞分离自三叉神经组织；三叉神经为最粗大的混合性脑神经，含一般躯体感觉和特殊内脏运动两种纤维。其特殊内脏运动纤维起于脑桥中段的三叉神经运动核，纤维组成三叉神经运动根，由脑桥基底部分与脑桥臂交界处出脑，位于感觉根下内侧，最后进入三叉神经第3支下颌神经中，经卵圆孔出颅，随下颌神经分支分布于咀嚼肌等。运动根内还含有三叉神经中脑核有关的纤维，主要传导咀嚼肌的本体感觉。三叉神经内以躯体感觉神经纤维为主，这些纤维的细胞体位于三叉神经节(半月节)内，该神经节位于颅中窝颧骨岩部尖端的前面三叉神经压迹处，为硬脑膜形成的美克尔腔包裹。三叉神经节由假单极神经元组成，其中枢突集中构成了粗大的三叉神经感觉根，由脑桥基底部分与脑桥臂交界处入脑，止于三叉神经诸感觉核，其中传导痛温觉的纤维主要终止于三叉神经脊束核；传导触觉的纤维主要终止于三叉神经脑桥核。三叉神经节细胞的周围突组成三叉神经三大分支，即第1支眼神经、第2支上颌神经、第3支为下颌神经。从3大分支不断分支分布于面部皮肤、眼及眶内、口腔、鼻腔、鼻旁窦的粘膜、牙、脑膜等，传导痛、温、触等多种感觉。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的小鼠三叉神经元细胞采用胰蛋白酶消化法结合神经元专用培养基培养、化学试剂抑制法筛选制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的小鼠三叉神经元细胞经  $\alpha$ -Tubulin- 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。

### 6. 培养信息：

包被条件	PLL(0.1mg/ml)
培养基	含B-27 Supplement、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-M317
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	神经元细胞样
传代特性	属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群
传代比例	不传代
消化液	0.125%胰蛋白酶



培养条件 气相：空气，95%；CO<sub>2</sub>，5%

小鼠三叉神经元细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛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。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

小鼠三叉神经元细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈神经元细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

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. 静置后，显微镜下观察细胞状态，拍照记录细胞的贴壁情况，漂浮的细胞需离心收集后在离心管消化(脱落细胞处理方式)，贴壁细胞也需消化后与脱落的细胞合并一起后重新接种。
  - 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS (37℃ 预热) 清洗细胞一次；
  - 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液0.5mL至培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，37℃ 温浴1min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按换液频率更换新鲜的完全培养基 (37℃ 预热)。

### 3. 神经元细胞消化

- 1) 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞(1200rpm 5min)，细胞沉淀按照下面脱落细胞处理方式处理该部分细胞；
- 2) 培养瓶内贴壁细胞，用PBS(37℃ 预热)清洗细胞一次，将PBS收集到步骤1的离心管中，不要直接丢弃；
- 3) 添加0.125%胰蛋白酶消化液(0.25%胰酶用PBS稀释一倍)1mL至培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，放入4℃ 冰箱消化细胞3-5min(或者37℃ 温浴1min)；
- 4) 倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5ml完全培养基终止消化(稀释法终止消化，培养基用量不低于5ml)；
- 5) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，1200rpm 5min 离心去除残留胰酶；



- 6) 去掉上清，加入适量的完全培养基混匀(可补加1%FBS，促进贴壁)，接种于孔板中(提前多聚赖氨酸包被孔板)；
- 7) 待细胞贴壁后可用于后续相关实验。

#### 4. 细胞收货脱落

- 1) 收集所有细胞悬液，1200rpm 5min离心，保留沉淀；
- 2) 添加0.125%胰蛋白酶消化液(0.25%胰酶用PBS稀释一倍)1mL至离心管中，轻柔重悬沉淀，放置4 冰箱静置3-5min)；
- 3) 消化完向离心管内加入5ml完全培养基终止消化；
- 4) 经1200rpm，离心5min，丢弃上清，用5ml完全培养基(可补加1%FBS，促进贴壁)重悬沉淀，接种于新的培养瓶内；
- 5) 接种后绝对静置24-48小时，48小时后观察，否则细胞容易聚团。

#### 5. 细胞实验

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（2-5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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。

#### 四、注意事项

1. 培养基于4 条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

##### 特殊注意事项

6. 神经元细胞贴壁不牢，必须包被培养器皿；细胞遇冷易收缩脱落，所用试剂需37 预热，室温观察时间不宜过长。

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

