

货号	名称	规格	储存	应用
SP04152-1kit	NSCGRO Expansion Medium Pro Medium with Supplement	1kit	/	细胞培养
SP04152-0500	NSCGRO Expansion Medium Pro Basal Medium	500mL	2~8°C避光储存	细胞培养
SP04152-A	B-27 神经细胞添加剂 (50×), 不含维生素 A	10mL	-5~-20°C	细胞培养
SP04152-B	神经干细胞专用添加剂	10mL	-5~-20°C	细胞培养
SP04152-C	青霉素-链霉素溶液 (双抗, 100×)	5mL	-5~-20°C	细胞培养

## NSCGRO Expansion Medium Pro Medium with Supplement

### (神经干细胞培养基 + 补料)

## 产品说明书

产品规格: 1kit

产品货号: SP04152-1kit

### 1. 产品描述:

NSCGRO Expansion Medium Pro是一种无血清培养基, 用于在贴壁或悬浮培养中生长和扩增的神经干细胞(NSC)。使用NSCGRO Expansion Medium Pro, NSC可以扩增多次传代, 同时保持其分化为神经元和胶质细胞的潜力。使用NSCGRO Expansion Medium Pro, NSC可以扩增多次传代, 同时保持其分化为神经元和胶质细胞的潜力。本产品中已包含神经干细胞生长所需的各种成分, 按推荐比例添加后无需添加任何成分, 可直接用于神经干细胞的体外培养。



## 2. 产品参数:

形态	液体
浓度	1 ×
规格	500 mL
配制比	95% 神经干细胞专用基础培养基 (NSCM) +2% B-27神经细胞添加剂 (50×) , 不含维生素A+2% 神经干细胞专用添加剂+1% 青霉素-链霉素溶液
细菌检测	阴性
支原体检测	阴性
真菌检测	阴性
内毒素	< 3EU/mL
有效期	12个月

## 3. 使用方法:

### 1、准备完全培养基:

按照配置比例, 将B-27神经细胞添加剂和神经干细胞专用添加剂加入神经干细胞专用基础培养基中, 可按需求添加双抗溶液。完全培养基置于4°C保存, 有效期3个月。

### 2、培养瓶的前处理:

(1) 接种前, 请先选择一种覆盖层材料覆盖培养瓶, 推荐SPERIKON的基质胶产品, 使用按1:100稀释后处理培养瓶。以T25为例, 每瓶5mL, 确保表面完全覆盖, 并在含5% CO<sub>2</sub>的37°C潮湿环境中孵育60分钟。

(2) 在使用前, 立即去除所有覆盖层溶液, 然后用预热的完全培养基替换, 注意需尽量避免刮擦培养表面。

### 3、NSC细胞的复苏:

(1) 在37°C水浴中迅速(<2分钟)解冻细胞。



- (2) 用移液管将冻存液全部移入无菌的15mL离心管中。
- (3) 小心滴加(每秒1滴)，加入4mL预热好完全培养基，然后轻轻旋转离心管混合。
- (4) 继续添加预热的完全培养基至10mL。
- (5) 200g离心4分钟，确认细胞沉淀，丢弃上清。
- (6) 加入5mL预热好的完全培养基重悬细胞沉淀，然后添加ROCK抑制剂Y-27632 (终浓度10 $\mu$ M)，再将离心管的全部内容物转移到包被的组织培养瓶中。建议以大于1\*10<sup>5</sup>个细胞/cm<sup>2</sup>的密度接种细胞。
- (7) 于37 $^{\circ}$ C，5%CO<sub>2</sub>的潮湿环境中孵育。
- (8) 复苏后24小时用新的预热的完全培养基替换培养基。

#### 4、NSC细胞的传代：

- (1) 当细胞密度达到90-100%的融合度时，丢弃培养瓶中的培养基。
- (2) 用5mL不含钙和镁的预温DPBS洗涤细胞，然后吸弃溶液。
- (3) 在每个培养瓶中加入1.0 mL预热的细胞解离试剂，然后在室温下孵育2-5分钟。在孵育前确保完全覆盖细胞。用倒置显微镜观察细胞是否脱离。如有必要，轻拍培养瓶以促进细胞脱离。
- (4) 轻轻上下移液，使团块分散到单个细胞悬液中。加入9mL预热好的完全培养基停止细胞解离反应，然后将细胞悬液转移到无菌离心管中，200g离心4分钟。
- (5) 丢弃上清，然后用适量完全培养基重悬细胞沉淀。并用细胞计数器测定总活细胞密度
- (6) 从覆盖层培养瓶中除去覆盖层溶液，然后加入5mL预热的全培养基，添加Y27632 (终浓度10 $\mu$ M)。
- (7) 在每个培养瓶中加入5\*10<sup>4</sup>细胞/cm<sup>2</sup> (每个T-25培养瓶接种1.25\*10<sup>6</sup>个细胞)，然后混合细胞悬液以确保细胞均匀分布。
- (8) 于37 $^{\circ}$ C，5%CO<sub>2</sub>的潮湿环境中孵育。建议每2-3天更换一次完全培养基。

#### 5、NSC细胞的冻存：

- (1) 使用完全培养基和20%二甲基亚砷(DMSO)制备细胞冻存液。
- (2) 按照“NSC传代”中的步骤1至步骤5收集细胞以便进行冷冻保存。
- (3) 通过细胞计数数据，计算细胞密度为2\*10<sup>6</sup>个活细胞/mL所需的最终体积。
- (4) 丢弃上清，然后用计算体积的完全培养基重悬细胞。
- (5) 加入等量的20%DMSO冻存液，使终浓度为10% DMSO。



- (6) 立即将细胞悬液等分放入冻存瓶中(1mL /瓶)。
- (7) 通过程序降温实现低温保存，将冷冻细胞转移到液氮中。
- (8) 建议直接使用SPERIKON的无血清冻存液效果更好，操作更简便。

#### 4. 注意事项：

1. 使用产品时应注意无菌操作，避免污染；
2. B-27神经细胞添加剂（50×），不含维生素A、神经干细胞专用添加剂和双抗请按标签所示温度保存，在2-8°C溶解后使用，若用量较少，请在第一次解冻后按使用比例进行分装，避免反复冻融；
3. 本产品为单独成分的包装形式，需自行配制成完培后再进行使用，完培有效期为3个月；
4. 为保持本产品的最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高的温度环境中；
5. 所有产品请于保质期内使用，超出保质期，必须放弃使用；
6. 本产品只供进一步科研使用，不可应用于临床等其他方面。

**免责声明：** 仅供科研使用，本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

