

# hPSC 来源神经干/祖细胞 iNSPC-H1 说明书

Cat NO: IMI-SP01H1

## 基本信息

细胞名称: iNSPC-H1, 人胚胎干细胞 (H1) 来源神经干/祖细胞

种属来源: 人

细胞来源: 人胚胎干细胞

细胞形态: 球形

生长特性: 悬浮生长

培养基: NSPC 扩增培养基 (含 NSPC 扩增基础培养基, 货号 IMI-SP01BM2; NSPC 扩增培养基补充剂, 货号 IMI-SP01C)

生长条件: 气相: 95% 空气+5% 二氧化碳; 温度: 37°C

传代方法: 500000 cells/mL 接种传代 (约 1:2 至 1:3)

冻存条件: 神经细胞无血清冻存液 (货号 IMC-704), 液氮储存

支原体检测: 无

规格:  $1 \times 10^6$  个细胞

## 培养操作

1) **复苏细胞:** 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL NSPC 扩增培养基 (含 10  $\mu$  M Y-27632) 混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL NSPC 扩增培养基 (含 10  $\mu$  M Y-27632) 后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量 NSPC 扩增培养基 (含 10  $\mu$  M Y-27632) 的低吸附六孔板 (1 孔) 或低吸附 35mm 皿中培养过夜。24h 后, 100g 离心弃去上清, 换成不含 Y-27632 的 NSPC 扩增培养基, 视培养基颜色或隔 2 天半量换液。

2) **细胞传代:** 当神经球直径达 100-150  $\mu$  m 时, 即可进行传代培养。

a、100g 离心弃去上清, 加入 1-2 mL Accutase (含 10  $\mu$  M Y-27632), 置于 37°C 水浴消化 10-15 min。

b、10-15 min 后每孔加入等量 NSPC 扩增培养基, 轻轻吹打细胞, 使细胞解离成小团块或单细胞。



c、将细胞悬液收集到 15 mL 离心管中，室温下 300 g 离心 5 min。

d、仔细抽吸上清液，不干扰细胞，用 1mL 恢复室温的 NSPC 扩增培养基重悬细胞，轻轻地上下移液以确保细胞溶液均匀。

e、使用自动细胞计数器计数细胞，使用台盼蓝排除死亡细胞，使用 NSPC 扩增培养基稀释细胞，将细胞以  $5 \times 10^5/\text{mL}$ （或 1:2-1:3 比例）接种到低吸附六孔板中。

3) **细胞冻存**：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面以低吸附 T25 为例：

a、收集细胞及细胞培养液，装入离心管中，100g 离心 5 min，弃上清液，加入 2 mL Accutase（含  $10 \mu\text{M}$  Y-27632）水浴消化 15 min，。

b、根据细胞数量加入神经细胞无血清冻存液，使细胞密度  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7/\text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。

c、将冻存管放入  $-80^\circ\text{C}$  冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

### 培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75% 酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。**观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于  $37^\circ\text{C}$  培养箱放置 2-4h。**
4. 客户可购买逸漠生物 NSPC 扩增培养基（含 NSPC 扩增基础培养基，货号 IMI-SP01BM2；NSPC 扩增培养基补充剂，货号 IMI-SP01C）。
5. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。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，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解决。
6. 该细胞仅供科研使用。
7. **备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。**



8. 注意： 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 1 个六孔板（或按照底面积换算），必须使用低吸附培养器皿，或经过特殊液体润洗使得细胞难以贴于培养器皿表面。

