

KEL™ Neurobasal Medium ,w/o L-glutamine

货号：KC1450-01, 500ml

产品简介：

Neuronal 培养基用于出产前/胚胎神经元细胞的培养，使用时需添加 KEL Biotech B-27 或 N-2 添加剂。可应用于海马神经元，大脑皮层和大脑其他区域的神经细胞的培养。该培养基可以在不添加胶质细胞饲养层的情况下，短期或长期维持神经细胞的同源群落存活。Neuronal 基础培养基不含 L-谷氨酰胺（Glutamine）、L-谷氨酸和 L-天冬氨酸，必须组合无血清添加剂(例如 B-27 或 N-2 添加剂)，或者血清和 0.5 mM L-谷氨酰胺，又或者血清和 0.5 mM L-丙胺酰-谷氨酰胺溶液。初次接种平板时，应加入 25 μM L-谷氨酸。

注意事项：

本产品使用注射用水配置。

本产品供科学研究和生产使用，用于组织和细胞的体外培养。禁止临床使用。

产品参数：

本产品为过滤除菌产品。物理外观：红色澄清液体；内毒素：≤0.25 EU/ml；渗透压：205~245 mOsm/kg·H₂O；pH 值：7.1~7.5；储藏条件：2~8 °C，避光；运输条件：蓝冰；用途：仅供科研和生产使用

操作说明（仅供参考）：**1. 准备培养基**

(1) 每 100 ml Neuronal 培养基添加 2 ml B-27 添加剂（50X），并加入终浓度 0.5 mM 的 L-谷氨酰胺（Glutamine）或 L-丙胺酰-谷氨酰胺溶液；或者每 100 ml Neuronal 培养基添加 1 ml N-2 添加剂（100X），并加入终浓度 0.5~2 mM 的 L-谷氨酰胺或 L-丙胺酰-谷氨酰胺溶液

(2) 原代神经元细胞首次接种平板时，应先加入 25 μM（3.7 μg/ml）L-谷氨酸。有些细胞系需要加入终浓度 2%的血清促进细胞贴壁

(3) 可加入 25 μM β-巯基乙醇以延长海马神经元的存活时间

注意：培养基准备完全后，请避光保存在 2~8 °C 的环境里，并于一周内使用完毕。

1. 细胞培养的条件

培养基：Neuronal 培养基细胞类型：贴壁细胞；培养容器和设备：培养板，培养瓶和 CO₂ 恒温培养箱；培养温度：36~38 °C；培养条件：CO₂ 含量 5%的湿润空气，避光。实验前应对细胞培养仪器进行温度和空气的设置。

以下实验方案，均以 6 孔培养板为例。

1. 神经细胞培养

原代神经元细胞的培养在神经生物学和药理学中都是必不可少的。科学家钟爱使用新分离的神经元细胞，因为它们保留着良好的功能性，但是考虑到获取不便，使用商品化的大鼠原代神经元细胞更具有灵活性，能够立即使用，同时其功能性等同于新分离的神经元细胞。而特定原代神经元细胞类型的获取，非常依赖操作者优化的实验方案。

1. 培养板培养细胞

1. 在 48 孔培养板或者其它培养器皿上包被冷的多聚 D-赖氨酸溶液(0.05 mg/ml)。用于原代神经元细胞培养时，包被量 0.15 ml/cm²，室温下 1 小时；
2. 移去包被液，并用无菌水冲洗两次（包被液有细胞毒性，请冲洗彻底）；



3. 勿覆盖冲洗后的培养板，保证空中水分完全干燥。干燥后可立刻使用，或者可在 4 °C 的干燥环境中保存两周；
4. 接种细胞入培养板，每 60~150 μ l Neuronal 和添加剂的混和培养基，接入 90~320 个/ mm^2 的细胞；
5. 放入培养箱培养一小时；
6. 倾斜培养板，将培养基轻轻吸出；
7. 在孔中迅速加入 0.4 ml/孔预热的 Neuronal 和添加剂的混和培养基；
8. 接种细胞后 3~4 天，首次更换培养基，以后每隔 3 天更换一次培养基；更换时，吸出一半旧培养基，加入等量新培养基。

注意：培养成神经细胞瘤时，接种和替换的培养基中需要含 L-谷氨酰胺溶液。

1. 复苏：

低温储藏复苏后的原代神经元细胞非常脆弱，请勿离心收集细胞！神经元细胞可以附着在塑料或者玻璃表面。为了最大程度复苏细胞，我们推荐在使用之前，请用培养基预冲洗所有塑料和玻璃表面。

1. 实验前请准备好多聚 D-赖氨酸溶液包被的无菌培养器皿；
2. 在 37 °C 水浴中，迅速 (<1 分钟) 溶解一小管冻存的细胞。最后一丝冰融化时，立刻从水浴中移出管子；
3. 在完全培养基中冲洗移液器尖端，然后轻轻的吸取小管中溶解的细胞，并转移至预先用培养基冲洗过的 15 ml 圆锥管中；
4. 用 1 ml 预热的培养基冲洗小管，然后用每秒钟 2 滴的速度滴到 15 ml 圆锥管中，每滴后轻摇混匀；
5. 逐滴加入 2 ml 培养基，每滴后轻摇混匀，使管内悬液体积达到 4 ml；
6. 细胞计数；
7. 在多聚 D-赖氨酸溶液包被过 48 孔板（或者 8 腔室盖玻片）的每个孔(或者腔室)中加入约 1×10^5 个细胞，并用培养基补充终体积至 500 μ l；
8. 放入培养箱培养；
9. 接种细胞后每隔 3 天更换一次培养基；更换时，吸出一半旧培养基，加入等量无 L-谷氨酰胺的新培养基。

