



细胞产品手册

OriCell® C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞

产品货号：BCCAC-00001

产品介绍

星形胶质细胞是存在于大脑以及脊髓中的一种星状的胶质细胞。它们在脑血屏障的形成中起着非常重要的作用，为神经组织提供营养，维持细胞外离子平衡，治疗大脑创伤和脊髓损伤。

神经星形胶质细胞，是哺乳动物脑内分布最广泛的一类细胞，也是胶质细胞中体积最大的一种。用经典的金属浸镀技术（银染色）显示此类胶质细胞呈星形，从胞体发出许多长而分支的突起，伸展充填在神经细胞的胞体及其突起之间，起支持和分隔神经细胞的作用。细胞突起的末端常膨大形成脚板或称终足，有些脚板贴附在邻近的毛细血管壁上，因此这些脚板又被称为血管足或血管周足，靠近脑脊髓表面的脚板则附着在软膜内表面，彼此连接构成胶质界膜。OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞取自新生小鼠的大脑皮层。

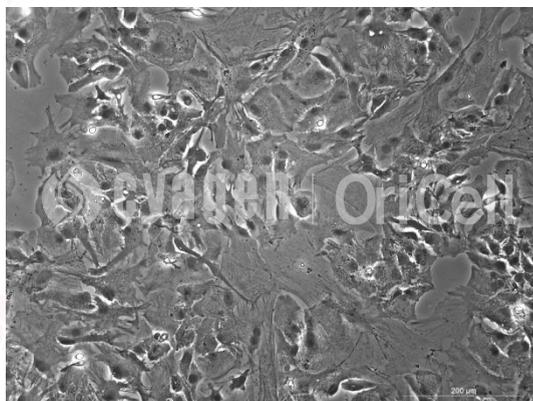
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

使用本细胞发表的文献需注明： (OriCell, Cat.No. BCCAC-00001) from Cyagen.

产品信息

产品名称	OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞
货号	BCCAC-00001
规格	1×10 ⁶ 个/管
冻存代次	P2
保存条件	液氮 (-196°C)

OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>80%。
- 通过细胞周期检测，倍增周期<72 h。
- 通过免疫荧光检测，表达 GFAP ($\geq 80\%$)；不表达 β -tubulin III ($\leq 10\%$)，Galc ($\leq 10\%$)。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. 皮层星形胶质细胞在体外增殖能力有限，且不能长期保持分化潜能。基于丰富的细胞培养经验和性能优异的培养体系，OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞可在体外传代3次以上依然保持各项指标合格。但我们始终建议尽可能使用较低代次细胞进行科研工作。
5. 通常 C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞接种密度为 $(3-4)\times 10^4$ 个活细胞/cm²。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系的关系极大。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。
6. 不建议细胞冻存再使用。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞
- OriCell®小鼠星形胶质细胞完全培养基（货号：MUXAC-90011，以下简称完全培养基）

操作步骤

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

注意：请以公式 $RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$ 计算相应转速 [RCF:离心力，r:转子半径(cm)，RPM:转速]。

9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意：若发现较多漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。

13. 之后，每 2 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至 90%汇合，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell®0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- OriCell®小鼠星形胶质细胞完全培养基 (货号: MUXAC-90011, 以下简称完全培养基)

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证充分接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。

注意: 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。

8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按(3~4) ×10⁴ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 培养 C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞对于细胞密度有较高的要求, 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞传代比例为 1:3, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 待细胞生长至 90%汇合, 即需传代或冻存。

注意: 正常情况下 OriCell®C57BL/6 小鼠皮层星形胶质细胞每代生长时间不超过 72 h, 中途不需要换液。频繁换液会破坏构建起的细胞微环境。

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，
不得改编或转载用作其他商业用途。

 cyagen | OriCell

 cyagen | OriCell