

## 产品说明书

### **OriCell F344** 大鼠皮层星形胶质细胞

货号: **FCCAC-00001**

## 目录

产品基本信息.....	1
产品介绍.....	1
产品应用领域.....	1
处理原则.....	2
OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞的复苏和培养.....	2
OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞的传代.....	3
参考文献.....	5

## 产品基本信息

产品名称	F344 大鼠皮层星形胶质细胞
货号	FCCAC-00001
规格	1×10 <sup>6</sup> 个细胞/管
冻存代次	P1
保存条件	液氮



**警告：**产品冻存液中含有DMSO，具有潜在的生物公害，操作者请谨慎处理。

## 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。

OriCell F344大鼠皮层星形胶质细胞来源于新生鼠的大脑皮层，细菌、真菌、支原体阴性。

### F344 大鼠皮层星形胶质细胞的活力

- 复苏存活率≥80%
- 可以传代2次以上

### F344大鼠皮层星形胶质细胞的纯度

- GFAP 阳性细胞 ≥ 80%
- β-tubulin III 阳性细胞 ≤ 10%
- GalC阳性细胞 ≤ 10%

该产品仅提供给进一步科研使用，不可应用于临床治疗等其他方面。

## 产品应用领域

F344 大鼠皮层星形胶质细胞可被用于神经生物学的研究，比如，中枢神经系统细胞外环境的维护，神经元新陈代谢和神经递质合成的支撑，以及帕金森氏病、阿尔茨海默病方面的新药研发。

## 处理原则

1. 要在无菌的条件下处理该产品。
2. 我们建议一般细胞接种密度是 $3.0-4.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>，具体数量请根据细胞状态加以调整。
3. 我们强烈建议用于科研的细胞代次不超过3代。
4. 星形胶质细胞的传代能力有限，不建议细胞冻存再使用。



**注意：**我们强烈建议使用OriCell培养基和其他相关试剂以达到最理想的培养效果。

## OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞的复苏和培养

### 所需材料

- OriCell F344大鼠皮层星形胶质细胞完全培养基（货号： FCCAC-90011）

### 复苏星形胶质细胞

1. 准备好37℃水浴。
2. 准备好F344大鼠皮层星形胶质细胞完全培养基，温育到37℃。
3. 在15 mL离心管中加入9 mL星型胶质细胞完全培养基。
4. 从液氮罐中取出冻存的星形胶质细胞，立即放入-80℃冰箱（目的是让进入冻存管的液氮稍加挥发）。
5. 在-80℃放置2-3 min后，取出冻存细胞，将冻存管迅速放入37℃温水中，快速晃动使管中内含物尽快融化。仔细观察，待冻存管内含物完全融化后取出。



### 注意：

- ① 尽可能避免水没过管帽，以减少污染的风险。
  - ② 要快速完成细胞复苏过程，融化过程时间过长，会造成复苏后的细胞活性较差。
6. 用70%-75%酒精消毒冻存管口的外壁。
  7. 在超净台中打开冻存管，用吸管将细胞冻存悬液移入装有完全培养基的离心管中。注意尽量避免产生气泡。
  8. 为了减少细胞损失，往冻存管中加入1 mL完全培养基，稍微吹打，用吸管将这1 mL的细胞悬液吸入离心管中，再用吸管将离心管中的细胞轻轻吹打混匀。
  9. 将细胞悬液经250 g（对应于Eppendorf 5810R离心机是1134 rpm）离心5 min。
  10. 尽量去除上清液，向细胞沉淀物加入1-2 mL的完全培养基（已预热到37℃），轻

轻吹打混匀。

11. 将细胞按 $3.0-4.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>的密度接种到培养器皿中，加入足量的完全培养基。  
轻轻摇晃细胞培养器皿使细胞均匀分布。
12. 在37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。
13. 复苏第二天，给复苏的细胞换用新鲜的完全培养基（已预热到37°C）。
14. 之后，每两天给细胞换新鲜的完全培养基直到细胞达80%-90%的汇合度。
15. 当细胞达80%-90%的汇合度，进行消化传代。



### 注意：换液

- ① 预热培养基到37°C，弃去培养瓶中原培养基，再加入新鲜培养基。
- ② 避免反复温热培养基。如果在一次操作中没有必要整瓶培养基用完的话无法用完整瓶培养基，需建议分装到适当的无菌容器中。换液时只取当天所需培养基量进行预热。

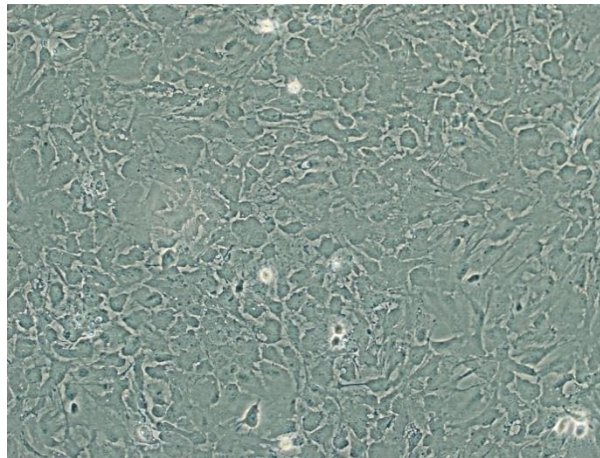


图1 培养中的F344 大鼠皮层星形胶质细胞

## OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞的传代

### 所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-Buffered Saline（1×PBS）（货号：PBS-10001）
- OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞（货号：FCCAC-00001）
- OriCell F344 大鼠皮层星形胶质细胞完全培养基（货号：FCCAC-90011）

## 传代

1. 将F344 大鼠皮层星形胶质细胞完全培养基、1×PBS、0.25%Trysin-0.04%EDTA预热至37℃。
2. 吸去培养液。
3. 用1×PBS（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）洗涤细胞2-3次。注意不要损害贴壁的细胞。
4. 吸去 1×PBS。
5. 加入0.25%Trypsin-0.04%EDTA (T25培养瓶加入约1 mL，T75培养瓶加入约2-3 mL)。轻轻旋转，使Trysin-EDTA覆盖细胞表面，消化，显微镜下观察到约70%-80%左右的细胞变圆后，用手轻拍培养器皿的壁使细胞脱壁。



**注意：**由于不同实验室所使用的Trysin效价不同，消化时间可能会略有不同，具体时间应以显微镜下观察到的情况为准。

6. 当看到明显的细胞脱落下来，立即加入预热的完全培养基（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）终止消化。
7. 用吸管吸取液体，反复吹打器皿底壁，使细胞彻底脱离器皿底壁。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
8. 将细胞悬液转移到15 mL的离心管中
9. 250 g，离心5 min。
10. 小心弃去上清液
11. 加入2 mL完全培养基重悬细胞。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
12. 对细胞进行台盼蓝染色计数活细胞数量。
13. 按照 $3.0-4.0 \times 10^4$ 个活细胞/cm<sup>2</sup>的密度来接种细胞。
16. 加入适量的完全培养基，轻轻摇晃细胞培养器皿使细胞均匀分布。
14. 把细胞放入37℃，5%CO<sub>2</sub>，饱和湿度的培养箱中培养。



### 注意：

#### 1. 换液时机

传代后发现有很多死细胞，应该予以换液。

当培养基pH值变低（颜色变黄），而此时细胞仍未能做传代处理时，应该予以换液。一般来说，换液间隔为2-3天。

#### 2. 传代时机

F344 大鼠星形胶质细胞生长到80-90%汇合度时需要进行传代，不能使细胞生长过密。

## 参考文献

Fedoroff, G. and Richardson, A. (1992) Protocols for Neural Cell Cultures. Humana Press, Totowa, N.J.

Jeffrey W. Allen, Lysette A. Mutkus, and Michael Aschner. (2001) Isolation of Neonatal Rat Cortical Astrocytes for Primary Cultures. Current Protocols in Toxicology 12.

**Cyagen Biosciences保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。**

**没有Cyagen Biosciences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。**