

## 兔多巴胺神经元细胞

Cat NO.: CP-Rb209

### 一、产品简介

1. 产品名称：兔多巴胺神经元细胞
2. 组织来源：脑组织
3. 细胞简介：

兔多巴胺神经元细胞分离脑组织；多巴胺神经元，即：胺能神经元，主要指含多巴胺的神经元，其细胞体主要分布在黑质、脚间核和丘脑下部等处。在这些区域多巴胺含量很高。多巴胺在机体内合成时以酪氨酸为原料。脑内的多巴胺主要是由黑质细胞来合成，这些多巴胺参与锥体外系统的活动，与躯体运动机能密切相关。脑内多巴胺代谢失常时，可引起震颤性麻痹(帕金森震颤)。多巴胺(Dopamine)，是NA的前体物质，是下丘脑和脑垂体腺中的一种关键神经递质，中枢神经系统中多巴胺的浓度受精神因素的影响，神经末梢的GnRH和多巴胺间存在着轴突联系并相互作用，以及多巴胺有抑制GnRH分泌的作用。中脑的神经原物质多巴胺(Dopamine)，则直接影响人们的情绪。从理论上来看，增加这种物质，就能让人兴奋，但是它会令人上瘾。多巴胺在前脑和基底神经节(Basal Ganglia)出现，基底神经节负责处理恐惧的情绪，但由于多巴胺的缘故，取代了恐惧的感觉，因此有很多人的上瘾行为，都是因多巴胺而起的。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的兔多巴胺神经元细胞采用胰蛋白酶消化法、神经元专用培养基培养筛选结合化学试剂抑制法制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的兔多巴胺神经元细胞经TH免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

### 6. 培养信息：

包被条件	PLL (0.1mg/ml)
培养基	含B-27 Supplement、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-Rb209
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	神经元细胞样
传代特性	属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群
传代比例	不传代
消化液	0.125%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%



兔多巴胺神经元细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

兔多巴胺神经元细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈神经元细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞属于终末分化细胞；属于不增殖细胞群；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。
2. 神经元细胞消化
  - 1) 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞（1200rpm 5min），细胞沉淀按照下面脱落细胞处理方式处理该部分细胞；
  - 2) 培养瓶内贴壁细胞，用PBS(37℃ 预热)清洗细胞一次，将PBS收集到步骤1的离心管中，不要直接丢弃；
  - 3) 添加0.125%胰蛋白酶消化液（0.25%胰酶用PBS稀释一倍）1mL至培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，放入4℃ 冰箱消化细胞3-5min（或者37℃ 温浴1min）；
  - 4) 倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化（稀释法终止消化，培养基用量不低于5mL）；
  - 5) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，1200rpm 5min 离心去除残留胰酶；
  - 6) 去掉上清，加入适量的完全培养基混匀(可补加1%FBS，促进贴壁)，接种于孔板中（提前多聚赖氨酸包被孔板）；
  - 7) 待细胞贴壁后可用于后续相关实验。
3. 细胞脱落
  - 1) 收集所有细胞悬液，1200rpm 5min离心，保留沉淀；
  - 2) 添加0.125%胰蛋白酶消化液(0.25%胰酶用PBS稀释一倍)1mL至离心管中，轻柔重悬沉淀，放置4℃ 冰箱静置3-5min)；
  - 3) 消化完向离心管内加入5mL完全培养基终止消化；
  - 4) 经1200rpm，离心5min，丢弃上清，用5mL完全培养基(可补加1%FBS，促进贴壁)重悬沉淀，接种于新的培养瓶内；
  - 5) 接种后绝对静置24-48小时，48小时后观察，否则细胞容易聚团。



#### 4. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），明胶（ $0.1\%$ ），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

1. 培养基于 $4^\circ\text{C}$ 条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；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，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

