



原代神经元 培养

相关产品

目录

- 3 原代神经元培养
NeuroCult™ SM1和BrainPhys™神经元培养基
- 4 提高神经元活力
SM1培养系统
- 6 增强功能和促进成熟
BrainPhys™神经元培养基
- 8 原代神经元的鉴定
借助NeuroFluor™ NeuO探针
- 9 产品信息
- 10 相关试剂
- 10 细胞因子
- 11 抗体
- 11 参考文献

原代神经元培养

NeuroCult™ SM1和BrainPhys™神经元培养基

原代神经元培养是在体外实验环境中研究神经元生物学的强大系统。为了获得具有良好形态和细胞功能的健康培养物,使用高质量培养基和添加物至关重要^{1,2}。原材料质量或相关制造工艺的差异都会导致试剂质量不一致,最终对敏感神经元培养产生影响³。

NeuroCult™ SM (优化版本) 神经元添加物是基于Brewer的B27添加物配方⁴,并进行了优化,更好地支持成熟、功能性神经元的短期及长期培养。

NeuroCult™ SM添加物可与BrainPhys™神经元培养基(由Cedric Bardy博士在Fred H. Gage博士实验室研发的神经元基础培养基)搭配使用,以更好地支持原代和人多能干细胞(hPSC)衍生的体外神经元功能⁵。

培养原代神经元时,推荐使用两步方案,考虑不同阶段的不同培养需求:用于铺板的生长优化培养基和用于成熟及长期培养的功能优化培养基。BrainPhys™原代神经元试剂盒包括上述两步实验方案所需的培养基和添加物。

技术讲座

Cedric Bardy博士讨论了他研发BrainPhys™的原因和方案。

主题:

- 神经元培养的培养基概述
- 人神经培养物的电生理测量
- 适合神经生理活动的神经元培养基的优势



技术讲座

探索体外功能性人神经元回路

www.stemcell.com/BrainPhysWebinar

STEMCELL提供适用于原代神经元研究的全套产品

组织解离

- 木瓜蛋白酶

细胞培养

- BrainPhys™神经元培养基
- BrainPhys™神经元培养基(不含酚红)
- NeuroCult™ SM1神经元添加物
- BrainPhys™原代神经元试剂盒
- BrainPhys™神经元培养基和SM1试剂盒
- 细胞因子
- 小分子
- 抗体

功能鉴定

- NeuroFluor™ NeuO探针
- 细胞因子
- 抗体

提高神经元活力

SM1培养系统

NeuroCult™ SM1神经元添加物 (NeuroCult™ SM1) 是一种无血清添加物, 用于啮齿动物原代神经元培养以及hPSC的分化和成熟。NeuroCult™ SM1是基于已发布的B27配方设计^{1,2}, 经过优化, 可以更好地支持成熟、功能性神经元的培养, 同时最大限度地减少神经胶质细胞污染 (<1% GFAP)。

NeuroCult™ SM1可单独购买, 作为BrainPhys™神经元培养基和SM1试剂盒的一部分, 或作为BrainPhys™原代神经元试剂盒的一部分。

为了获得最佳的神经元存活率和功能性, 首先将原代神经元接种在生长优化培养基中 (含有NeuroCult™ SM1的NeuroCult™神经元接种培养基), 然后转移到功能优化培养基 (含有NeuroCult™ SM1的BrainPhys™神经元培养基) (图1)。

这些基础培养基 (NeuroCult™神经元铺板培养基和BrainPhys™神经元培养基) 和添加物 (NeuroCult™ SM1) 是BrainPhys™原代神经元试剂盒的组成部分。

使用SM1培养系统 (即BrainPhys™原代神经元试剂盒) 培养的神经元形态成熟, 神经突起已发育成复杂的网络 (图2), 并在体外培养第21天时显示突触前和突触后标记的点状表达、(突触蛋白、MAP2和PSD-95; 图3)。

将SM1培养系统与其他培养系统 (添加有B-27™的Neurobasal®) 进行比较。与其他培养系统相比, 在SM1培养系统中培养神经元时, 观察到β-tubulin III免疫反应性神经元的数量显著增加, 表明细胞存活率显著提高 (图4A)。

NeuroCult™ SM1与B27类似物的进一步比较显示, 在整个培养期间使用神经元基础培养基 (Neurobasal®) 时, NeuroCult™ SM1添加物培养物中的神经元数量 (与B27类似物) 相当 (图4B)。

不同批次的NeuroCult™ SM1均能支持神经元在体外培养21天后保持高存活率。此外, 我们之前已经证明, 在含NeuroCult™ SM1添加物的培养基中培养的神经元显示出更高的神经元生长总量、更多的神经元分支点数量和正常的电生理特征 (数据未显示)。

现已上市

NeuroCult™ SM1 不含维生素 A

NeuroCult™ SM1 不含抗氧化剂

NeuroCult™ SM1 不含胰岛素

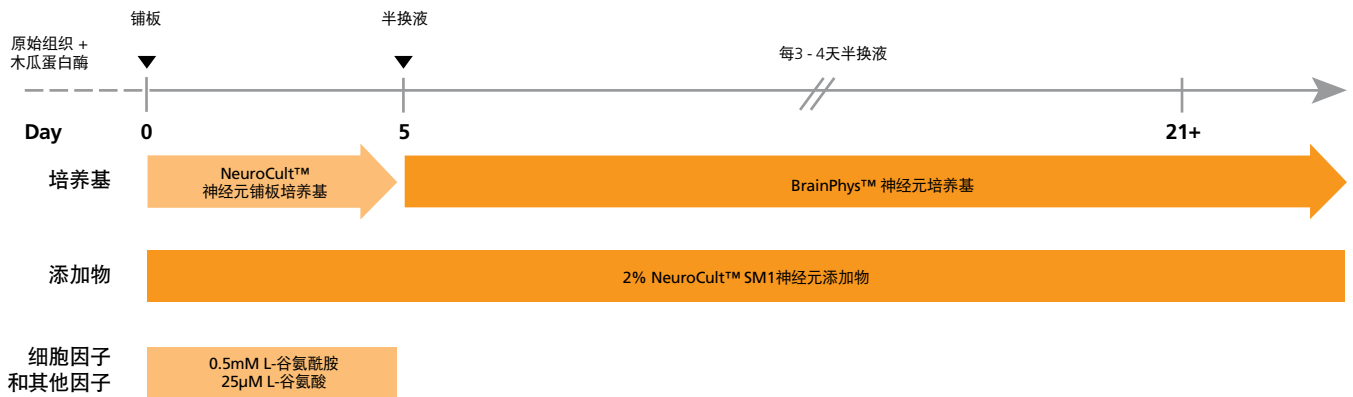


图1. 使用SM1培养系统对原代神经元进行铺板和培养

将木瓜蛋白酶解离的原代啮齿动物组织接种在NeuroCult™神经元铺板培养基中, 并添加NeuroCult™ SM1神经元添加物、L-谷氨酰胺和L-谷氨酸。第5天, 将原代神经元转移到BrainPhys™神经元培养基中, 并添加NeuroCult™ SM1神经元添加物, 每3-4天半换液。

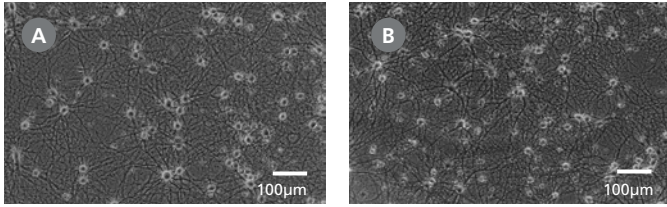


图2. SM1培养系统支持啮齿动物神经元的长期培养

原代E18大鼠皮层神经元在SM1培养系统中培养。在(A) 21天和(B) 35天后，可以看到大量存活的神经元，其表现为明亮的神经元细胞以及神经元突起和分支。神经元均匀分布在培养液表面，细胞结块现象极少。

为什么使用NeuroCult™ SM1?

专业。 NeuroCult™ SM1的配方有助于提高细胞在长期原代神经元培养中的存活率。

优化。 在短期和长期培养中，培养物的神经突起生长和分支均有所增加。

可靠和一致。 产品经过严格的质量控制测试，以确保结果的一致性。

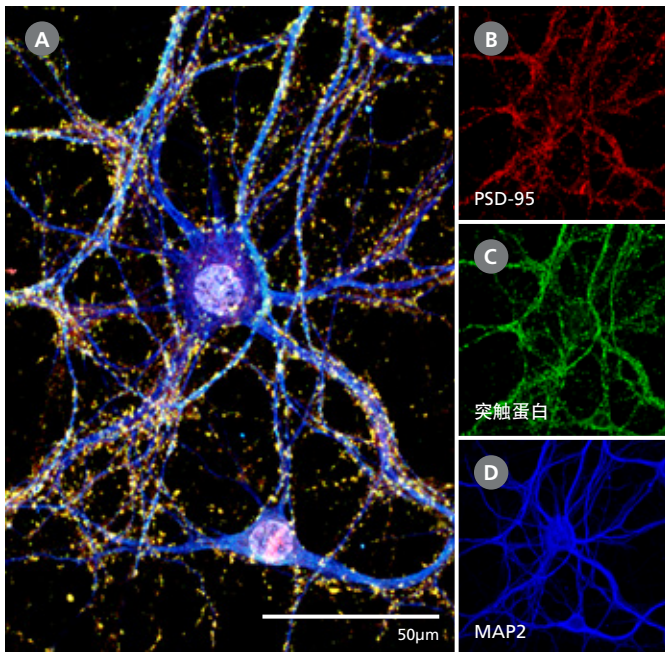


图3. 在SM1培养系统中培养的啮齿动物神经元表达突触前和突触后标记物

原代E18大鼠皮层神经元在SM1培养系统中培养。体外培养21天时，神经元表型成熟，表现为存在大量的树突轴，以及突触前突触素(A,C; 绿色)和突触后PSD-95(A,B; 红色)标记物的适当表达和定位。根据树突标记物MAP2的定义，突触素集中在沿着胞体和树突分布的离散点中(A,D; 蓝色)。

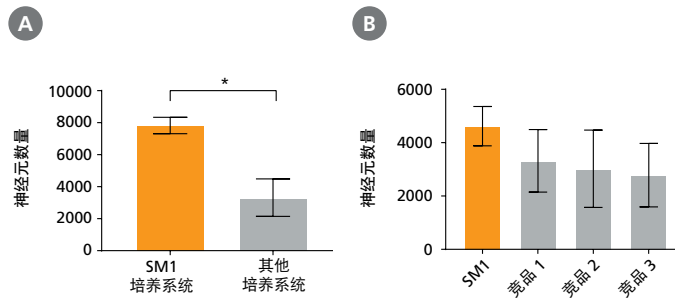


图4. SM1培养系统有助于提高细胞存活率

(A) 原代E18大鼠皮层神经元在SM1培养系统或其他培养系统 (Neurobasal®, 添加B-27™) 中培养21天。与其他培养系统相比，在SM1培养系统中培养的神经元存活细胞数明显更高 (n=4; 平均值±95% CI; *p < 0.05)。(B) 原代E18大鼠皮层神经元在添加有NeuroCult™ SM1神经元添加物 (SM1) 或B27类似物添加物 (竞品1、2、3) 的Neurobasal®中培养21天。与添加了其他添加物的培养物相比，添加NeuroCult™ SM1神经元添加物的培养物具有相同数量的神经元。条形图代表平均值的标准误差。

增强功能和促进成熟

BrainPhys™ 神经元培养基

BrainPhys™神经元培养基是一种无血清神经元基础培养基，用于培养啮齿类动物的原代神经元以及hPSC衍生神经元的分化和成熟。根据Cedric Bardy博士和Fred H. Gage博士的配方⁵，BrainPhys™神经元培养基更能代表大脑的细胞外环境，并能增加突触活跃神经元的比例。Bardy博士在其最初的论文⁵中发现，传统的神经元培养基（如Neurobasal®和Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)）支持细胞存活，但有可能损害神经活动，包括动作电位的产生和突触活动（表1）⁵。

BrainPhys™神经元培养基可作为BrainPhys™神经元培养基和SM1试剂盒的一部分单独提供，也可作为BrainPhys™原代神经元试剂盒的一部分提供。

如前所述，在SM1培养系统中培养的神经元显示出大量表型成熟的存活神经元（图2-4）。

与在其他神经元培养基（Neurobasal®；图5）中培养的神经元相比，在BrainPhys™神经元培养基中成熟的神经元功能成熟，突触活动也得到改善。在BrainPhys™神经元培养基成熟培养物中，自发兴奋性（AMPA受体介导）和抑制性（GABA受体介导）突触电流的频率和振幅都会增加。

此外，当使用微电极阵列系统（Axion Biosystems）进行评估时，在BrainPhys™神经元培养基中培养的神经元的平均发射率和活性电极百分比随着时间的推移明显增加，而在其他神经元培养基中培养的神经元的平均发射率和活性电极百分比仍然很低（图6）。

BrainPhys™ 神经元培养基的应用

- 培养小鼠或大鼠的原代神经元。
- hPSC衍生神经元的分化和成熟。
- 基于微电极阵列的神经元活动记录。
- 基于荧光的实时成像，包括钙成像和光遗传刺激与记录。
- 体细胞向神经元的转分化（细胞系转换）⁵。

表1. 培养基的特性⁵

特性	DMEM/F12	NEUROBASAL®	BRAINPHYS™
培养基的特性			
无机盐浓度	✓	非生理性	✓
葡萄糖水平	高血糖	高血糖	✓
渗透压	✓	低	✓
神经元功能			
自发和诱发动作电位	受损	受损	✓
自发网络钙动力学	受损	未测试	✓
兴奋性突触活动	受阻	低	✓
抑制性突触活动	受阻	受阻	✓

根据Bardy等人研究⁵，复选标记表示生理条件和辅助活动。

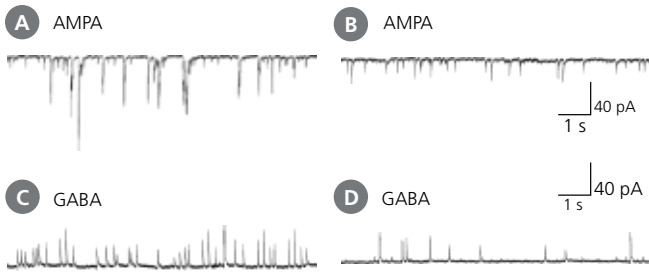


图5. 在BrainPhys™神经元培养基中成熟的啮齿动物神经元培养物显示出更强的兴奋和抑制性突触活性

(A,C) 原代大鼠E18皮层神经元铺板在含有NeuroCult™ SM1神经元添加物的NeuroCult™神经元基础培养基（该产品已被NeuroCult™神经元铺板培养基取代，其是BrainPhys™原代神经元试剂盒的一部分）中。体外培养5天后，原代神经元转移到BrainPhys™神经元培养基中，并添加NeuroCult™ SM1神经元添加物，每3-4天半换液。神经元体外培养21天。(B, D) 原代大鼠E18皮层神经元在含有NeuroCult™ SM1神经元添加物的其他神经元培养基（Neurobasal®）中体外培养21天后成熟。(A, C) 在BrainPhys™中成熟的神经元神经元培养基显示自发兴奋性（AMPA介导；A）和抑制性（GABA介导；C）突触活动。与在其他神经元培养基中培养成熟的神经元相比，在BrainPhys™神经元培养基中培养成熟的神经元自发突触活动的频率和幅度都更高(B,D)。轨迹具有代表性。

BrainPhys™神经元培养基的优势

生理相关。可更好地模拟人脑的内部环境。

活性。增强神经元功能，具突触活性的神经元比例更高。

流程兼容，无缝对接。无需替换培养基即可进行功能性检测。

多功能。支持原代和hPSC衍生神经元的长期培养。

可靠。严格的原材料筛选和质量控制可确保将批次间的差异性降至最低。

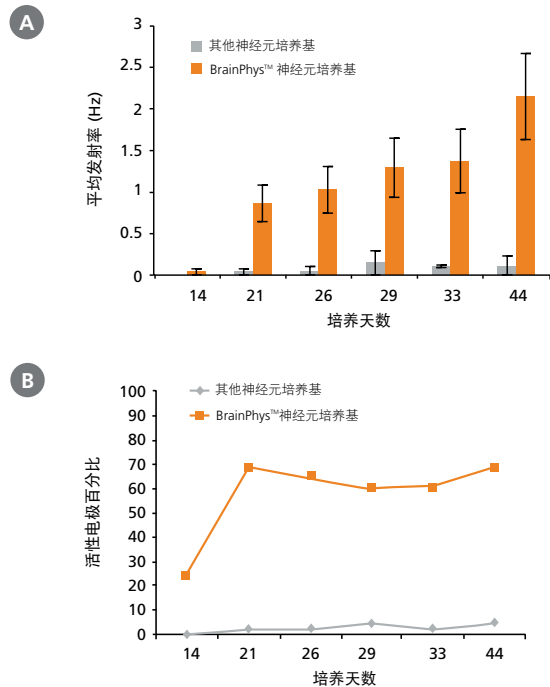


图6. 在BrainPhys™神经元培养基中成熟的原代神经元在微电极阵列系统中显示出更强的电活动

将原代大鼠E18皮质神经元培养在添加了NeuroCult™ SM1神经元添加物的其他神经元培养基（Neurobasal®）中。体外培养5天后，一半的原代神经元培养物转移到BrainPhys™神经元培养基中，并添加NeuroCult™ SM1神经元添加物，每3-4天半换液。另一半培养物始终保持在其他神经元培养基中。使用微电极阵列（MEA）系统（Axion Biosystems）每周测量两次神经元培养物的电活动。(A) 在BrainPhys™神经元培养基中培养的神经元的平均发射率随时间推移而增加，而在其他神经元培养基条件下培养的神经元的平均发射率较低（ $n=1$ ；平均值 \pm SEM，128个电极）。(B) 在BrainPhys™神经元培养基中成熟的神经元的活性电极百分比（ >0.005 Hz）从第14天的24%增加到第21天的69%，然后在第21-44天中稳定在60-70%。与此形成鲜明对比的是，在同样的6周时间内，在其他神经元培养基条件下活跃的电极比例小于5%。



BRAINPHYS™相关文献

如何在研究中使用BrainPhys™?

www.stemcell.com/BrainPhysReferences

原代神经元的鉴定

借助 NeuroFluor™ NeuO

NeuroFluor™ NeuO是一种膜渗透性荧光探针,可选择性标记活体培养的原代和多能干细胞衍生的神经元⁶。用NeuroFluor™ NeuO标记的细胞可通过荧光成像进行观察。

这种探针的标记是非永久性的,可被去除,为下游应用提供未标记的存活细胞。荧光特性:激发波长468 nm,发射波长557 nm。

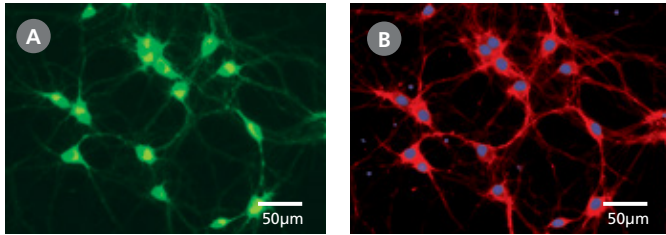


图7. NeuroFluor™ NeuO可选择性标记原代和hPSC衍生神经元

(A)来自原代大鼠皮层组织的神经元在含有NeuroCult™ SM1神经元添加物的BrainPhys™神经元培养基中培养。经过8天的培养,原代神经元经NeuroFluor™ NeuO(绿色)进行标记。(B)之后,对该培养物进行固定和免疫染色(β-tubulin III,红色)。使用DAPI复染细胞核。此图显示NeuroFluor™ NeuO特异性的标记β-tubulin III阳性的神经元。

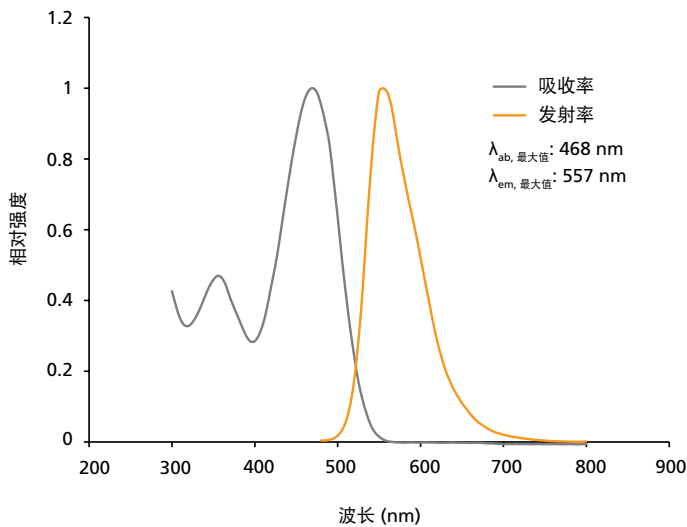


图8. NeuroFluor™ NeuO的荧光特性

激发波长468 nm, 发射波长557 nm。

为什么使用NeuroFluor™ NeuO?

无需固定。无需固定即可选择性标记原代和hPSC衍生神经元。

非永久性。无毒,可去除。

多功能。可用于确认源于人多能干细胞的NPCs的神经元分化。

功能性。可用于标记活体培养的神经元。

方便。简单快速的标记方案。

NeuroFluor™ NeuO的应用

- 标记培养中的活的hPSC衍生神经元,无需固定。
- 通过静脉注射NeuroFluor™ NeuO对小鼠大脑组织切片进行标记。
- 为电生理学实验定位神经细胞体。
- 使用荧光激活细胞分选技术(FACS)从啮齿类动物脑组织中分离活神经元。

产品信息

产品	规格	产品号 #
BrainPhys™ 基础培养基		
BrainPhys™ 神经元培养基	500 mL	05790
BrainPhys™ 神经元培养基 (不含酚红)	500 mL	05791
NeuroCult™ SM 添加物		
NeuroCult™ SM1 神经元添加物 (50X)	10 mL	05711
不含维生素A的 NeuroCult™ SM1 (50X)	10 mL	05731
不含抗氧化剂的 NeuroCult™ SM1 (50X)	10 mL	05732
不含胰岛素的 NeuroCult™ SM1 (50X)	10 mL	05733
完整试剂盒		
BrainPhys™ 神经元培养基和SM1 试剂盒	1套*	05792
BrainPhys™ 原代神经元试剂盒	1套**	05794
其他产品		
BrainPhysNeuroFluor™ NeuO	0.1 mL	01801

*试剂盒包括BrainPhys™神经元培养基和NeuroCult™ SM1神经元添加物。

** 试剂盒包括BrainPhys™神经元培养基、NeuroCult™ SM1神经元添加物和NeuroCult™神经元铺板培养基。

相关试剂

细胞因子

利用细胞因子和生长因子激活、扩增和分化细胞。这些高质量的试剂可支持神经元培养，并确保各种测定的可重复性。STEMCELL提供多种人、小鼠和大鼠细胞因子，助力您的研究。如需了解细胞因子的完整列表，包括不含动物成分的版本，请访问官www.stemcell.com/cytokines。

细胞因子	产品号 #	细胞因子	产品号 #	细胞因子	产品号 #
BDNF	78005	GDNF	78058	NGF-β	78092
bFGF	78133	Heregulin-β1	78071	Noggin	78060
CNTF	78010	HGF	78019	NOV	78198
EGF	78006	IGF-II	78023	NT-3	78093
EGFR	78171	IL-4	78045	肿瘤抑制素 M	78094
FGF-17	78179	IL-6	78050	PDGF (多种类型)	7809
FGF-5	78182	IL-10	78024	Persephin	78200
FGF-8A	78128	IL-11	78025	Prolactin	78098
FGF-acidic	78187	LIF	78055	TGF-β1	78067
G-CSF	78012	M-CSF	78057	TNF-α	78068

抗体

在特定应用中，使用经过验证且可与STEMCELL细胞培养试剂搭配使用的抗体来分析细胞。STEMCELL提供一系列专为神经元研究精选的抗体，可确保在免疫荧光和免疫细胞化学等下游应用中获得一致的结果。有关抗体的完整列表，请访问www.stemcell.com/antibodies。

目标抗原	克隆	同型	应用	规格	产品号 #
神经元标志物					
β-Tubulin III	TUJ1	小鼠 IgG _{2a}	ICC, IF	250 μL	60052
β-Tubulin III	2G10-TB3	小鼠 IgG _{2a}	ICC, IF, WB	100 μg	60092
				25 μg	60092.1
β-Tubulin III	AA10	小鼠 IgG _{2a}	ICC, IF, WB	100 μg	60100
				25 μg	60100.1
酪氨酸羟化酶	TH-2	小鼠 IgG ₁	ICC	200 μL	60058
神经胶质标志物					
神经胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)	-	兔多克隆	IHC, WB	200 μL	60128
	2E1.E9	小鼠 IgG _{2b}	FC, ICC, IF, WB	100 μg	60048
少突胶质细胞标志物O4	81	小鼠 IgM	ICC	25 μg	60048.1
				50 μg	60053
中枢/外周神经系统标志物					
NGF受体/p75NTR (CD271)	192-IgG (MC192)	小鼠 IgG ₁	IHC	100 μg	60101
神经干细胞标志物					
Nestin	Rat401	小鼠 IgG ₁	ICC	100 μg	60051
	10C2	小鼠 IgG ₁	FC, ICC, IF, WB	100 μg	60091
				25 μg	60091.1

*缩写：FC：流式细胞仪；ICC：免疫细胞化学；IF：免疫荧光显微镜；IHC：免疫组织化学；WB：免疫印迹法

参考文献

1. Brewer GJ et al. (1993) Optimized survival of hippocampal neurons in B27-supplemented Neurobasal, a new serum-free medium combination. *J Neurosci Res.* 35(5): 567-76.
2. Brewer GJ and Cotman CW. (1989) Survival and growth of hippocampal neurons in defined medium at low density: advantages of a sandwich culture technique or low oxygen. *Brain Res.* 494(1):65-74.
3. Chen Y et al. (2008) NS21: re-defined and modified supplement B27 for neuronal cultures. *J Neurosci Methods* 171(2):239-47.
4. Cressey D. (2009) Neuroscientists claim growing pains. *Nature* 459: 19.
5. Bardy C et al. (2015) Neuronal medium that supports basic synaptic functions and activity of human neurons in vitro. *Proc Natl Acad Sci.* 112 (20) E2725-E2734.
6. Er JC et al. (2017) NeuO: a fluorescent chemical probe for live neuron labeling. *Angew Chem Int Ed* 54(8) 2442-6.

版权所有STEMCELL Technologies Inc. 2024。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies和其设计及徽标、Scientists Helping Scientists以及NeuroCult均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。BrainPhys是Salk生物研究所的注册商标，经独家授权使用。Neurobasal是Thermo Fisher Scientific的注册商标。B-27是Southern Illinois大学的商标。所有商标和注册商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。

原代神经元 培养

相关产品



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.COM

微信: STEMCELLTech

文档号 #29898CN 版本 5.0.0 2024年8月