

大鼠浦肯野细胞

基本信息

产品名称：大鼠浦肯野细胞

产品品牌：纪宁生物

组织来源：小脑组织

产品规格：5×10⁵cells/T 25 细胞培养瓶

细胞简介

大鼠浦肯野细胞分离自小脑皮质组织。小脑的表面被覆着一层灰质，叫小脑皮质，小脑皮质分为 3 层，从表及里分别为分子层、浦肯野细胞层和颗粒细胞层。皮质里含有星状细胞、篮状细胞、浦肯野细胞、高尔基细胞和颗粒细胞等 5 种神经元。浦肯野细胞发出的轴突组成小脑皮质唯一的传出纤维，终止于小脑白质内的神经核。浦肯野细胞(Purkinje cell)是从小脑皮质发出的唯一能够传出冲动的神经元。

人的小脑皮质约有 1500 万个浦肯野细胞。浦肯野细胞还广泛分布于心室。显著的电生理特点是传导性强，传导速度快，可达 4000m m /s。属快反应自律型细胞，具有舒张期自动除极化的性能，因而有自律性，但自律性强度明显低于窦房结 P 细胞。这类细胞常常平行排列，细胞内电阻低，只有心室细胞的 1/3。小脑：浦肯野细胞是小脑皮质中最大的神经元，细胞体呈梨形，顶端发出 2~3 条粗大的主树突，向外伸入分子层。

主树突沿途分支繁茂，形如展开的、扁薄的扇形，铺展在与小脑叶片长轴垂直的平面上。树突分支上有大量的树突棘，与传入纤维构成广泛的突触联系，接受传入小脑的全部信息。轴突由细胞底部(与主树突相对方向)发出，细长，离开胞体不远便形成有髓神经纤维，向内经颗粒层离开皮质进入白质，组成小脑皮质唯一的传出纤维，终止于小脑内部的神经核团。一个浦肯野细胞的轴突约形成 500 个终末膨大，约与小脑深部核团的 35 个神经元形成突触。

心脏浦肯野细胞常常平行排列，几个细胞互相以浆膜连接排成一个小束，小束外包绕着基底膜。细胞内含肌原纤维很少，胞浆区内充满糖原颗粒、线粒体和肌浆网，细胞内电阻低，只有心室细胞的 1/3。浦肯野细胞内无横管系统，但膜电容比收缩细胞大，可能是由于其闰盘结构广泛而复杂，提供了较大的表面积的缘故。浦肯野细胞闰盘的主要成分是缝隙连接，粒着膜占的比例很少，这些可能是构成浦肯野细胞传导快的形态学基础。

方法简介

纪宁生物实验室分离的大鼠浦肯野细胞采用胰蛋白酶消化法结合神经元专用培养基、化学试剂抑制法筛选制备而来，细胞总量约为 5×10^5 cells/瓶

质量检测

纪宁生物实验室分离的大鼠浦肯野细胞经 Neph3 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。

培养信息

包被条件： PLL(0.1mg/ml)

培养基： 含脂质浓缩液、BSA、Monothio glycerol、Transferrin、Penicillin、Strep
tomycin 等

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： 不增殖；不传代

传代比例： 不传代

消化液： 0.25% 胰蛋白酶

培养条件： 气相：空气，95%；CO₂，5%

大鼠浦肯野细胞体外培养周期有限；建议使用纪宁生物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。

细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

使用方法

大鼠浦肯野细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈神经元细胞样，在纪宁生物技术部标准操作流程下，细胞不增殖；不传代；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 T 25 细胞培养瓶，用 75% 酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入 37°C、5% C O 2、饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h，以稳定细胞状态。
2. 神经元细胞消化一
 3. 吸出 T 25 细胞培养瓶中的培养基，用 P B S(37°C预热)清洗细胞一次。
 - 1) 添加 0.25% 胰蛋白酶消化液 0.5m L 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，37°C温浴 1min；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
 - 3) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，置于 37°C、5% C O 2、饱和湿度的细胞培养箱中置培养。
 - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按换液频率更换新鲜的完全培养基(37°C预热)。
 3. 神经元细胞消化二
 - 1) 吸出 T25 细胞培养瓶中的培养基，用 PBS 清洗细胞一次。
 - 2) 添加 0.25% 胰蛋白酶消化液 0.5m L 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，4°C冰箱静置 5min；消化后倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入 5ml 完全培养基终止消化。
 - 3) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，置于 37°C、5% C O 2、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养。
 - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基(37°C预热)。
 4. 细胞收货脱落
 - 1) 收集所有细胞悬液，1000rpm ，离心 5min，保留沉淀。

- 2) 添加 0.25% 胰蛋白酶消化液 0.5m L 至离心管中,重悬沉淀,放置于 37°C消化 3min (或 4°C冰箱静置 5-7min); 消化完向离心管内加入 5ml 完全培养基终止消化。
- 3) 经 1000rpm , 离心 5min, 丢弃上清, 用 5ml 完全培养基(补加 1% FBS, 促进贴壁)重悬沉淀, 接种于新的培养瓶内。
- 4) 待细胞完全贴壁后, 培养观察; 之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基(37°C预热)。

5. 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 I (2-5 μ g/cm²), 多聚赖氨酸 PLL (0.1mg/ml), 明胶 (0.1%), 依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

注意事项

上海纪宁生物细胞仅供科研实验使用

1. 培养基于 4°C条件下可保存 3-6 个月。
2. 在细胞培养过程中, 请注意保持无菌操作。
3. 传代培养过程中, 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, 便于和纪宁生物技术部沟通。由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时和我们纪宁系, 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。

