

### MN9D 小鼠中脑多巴胺能神经元细胞

Mouse midbrain dopaminergic neuron cells;MN9D

#### 细胞介绍

通过融合来自 14 天龄 C57BL/6J 小鼠胚胎的嘴侧中脑神经元和 N18TG2 神经母细胞瘤细胞(一种 A/Jax 背景 的交感神经系统癌症)产生了杂交的 MN9D 永生化多巴胺能神经元细胞系。

MN9D 细胞产生多巴胺(DA)并表达酪氨酸羟化酶(TH)以及芳香族氨基酸脱羧酶(AADC)。 MN9D 细胞容易彼此聚集或与其他胚胎脑细胞聚集,并且可以使用磷酸钙沉淀或脂质体转染未分化或分化的 MN9D 细胞被广泛用于模拟多巴胺能神经元,并测试与帕金森病中 DA 神经元缺失相关的机制和潜在疗法。先用丁酸或胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)再用丁酸分化,MN9D 细胞仅部分再现了中脑 DA 神经元的电生理特性。

由于能够表达酪氨酸羟化酶,并且能够合成、释放及吸收,因而被广泛应用于多巴胺能神经细胞损伤模型的研究。

#### 细胞特性

- 1) 来源: 小鼠脑组织。
- 2) 形态: 上皮样、贴壁生长。
- 3) 含量:  $>1 \times 10^6$  细胞数。
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
- 5) 用途: 仅供科研使用。

#### 运输和保存

##### 干冰运输及复苏好存活细胞

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输,收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏,若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染,请立即与我们联系。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货,收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

#### 细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后,75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h,若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染,请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态,同时给刚收到的细胞拍照(10×, 20×)各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存,作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 贴壁细胞:细胞在 37°C 培养箱中放置 2-3h,显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况,有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下,

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基 6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

**备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

## 一. 培养基及培养冻存条件准备

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基：优质胎牛血清，10%；双抗，1%。
- 2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。

## 二. 细胞处理

### 1) 冻存细胞的复苏

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

- 2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

### 对于贴壁细胞传代可以参考以下方法

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)，置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
3. 轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。
- 3) 细胞冻存：收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

### 下面 T25 瓶为例：

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml。
2. 1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。



**使用范围：**

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

