

## B27 Supplement (50X, Serum-free)

产品编号	产品名称	包装
C0350-10ml	B27 Supplement (50X, Serum-free)	10ml
C0350-50ml	B27 Supplement (50X, Serum-free)	50ml

### 产品简介:

- 碧云天生产的B27 Supplement (50X, Serum-free), 即B27无血清添加剂, 也常被称为B27 Supplement、B-27 supplement、B27添加剂、B27无血清添加剂, 是一种经优化的神经元细胞培养添加剂, 可广泛用于支持海马神经元和其它中枢神经系统(CNS)神经元细胞的生长和分化, 维持其短期或长期生存活性[1-4]。
- B27 Supplement (50X, Serum-free)以50X液体形式提供, 可与Neurobasal及Neurobasal-A培养基配合使用进行神经元细胞的正常培养、生长与分化, 无需星形胶质细胞滋养层[1]。
- 本产品B27 Supplement (50X, Serum-free)经严格的质量控制和过滤除菌处理, 不含血清, 由参与神经元存活、突触成熟、神经突起延伸的高品质抗氧化剂、多种细胞因子等组分配制而成, 具有极高品质, 可实现高效培养多种类型的神经元细胞, 并在长期培养条件下提高神经元细胞的生存活性[2,3]。
- 用途: 用于大鼠海马神经元及多种中枢神经元细胞的生长和活性维持; 神经细胞基础培养基的添加剂; 干细胞增殖与分化; 维持神经细胞来源的肿瘤细胞系的活性; 优化产前和胚胎神经元的活性和长期存活率; 扩增来自小鼠胚胎纹状体和中脑的EGF响应性前体细胞; 胚胎干细胞分化为神经元谱系(神经元和星形胶质细胞); 胚胎大鼠纹状体、黑质、鼻中隔和皮质以及新生儿小脑(胎儿和成人)神经元的存活; 添加 $\beta$ -FGF后可用于皮质神经元的生长和维持。
- 碧云天B27 Supplement (50X, Serum-free) (C0350)用于培养原代神经元细胞的实验流程请参考图1。

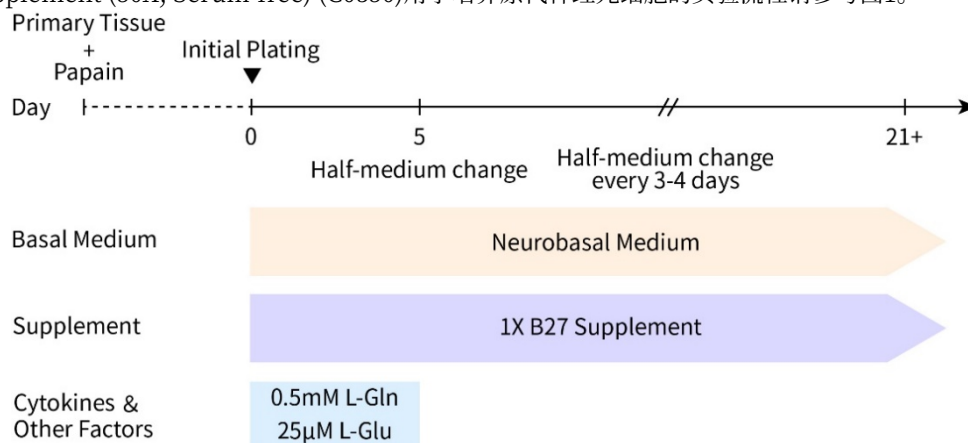


图1. 碧云天B27 Supplement (50X, Serum-free) (C0350)用于培养原代神经元细胞的实验流程图。如图所示, 建议在含有1X B27 Supplement及L-谷氨酰胺的Neurobasal培养基中添加终浓度为25 $\mu$ M的L-谷氨酸, 用于原代神经元细胞的初始接种; 培养4天后, 需在不含L-谷氨酸的条件下进行培养基的更换和原代神经元细胞的长期培养。

- 碧云天B27 Supplement (50X, Serum-free) (C0350)用于培养小鼠原代神经元细胞的生长维持效果及使用DAPI染色液、Tuj1抗体进行免疫荧光染色的效果请参考图2。

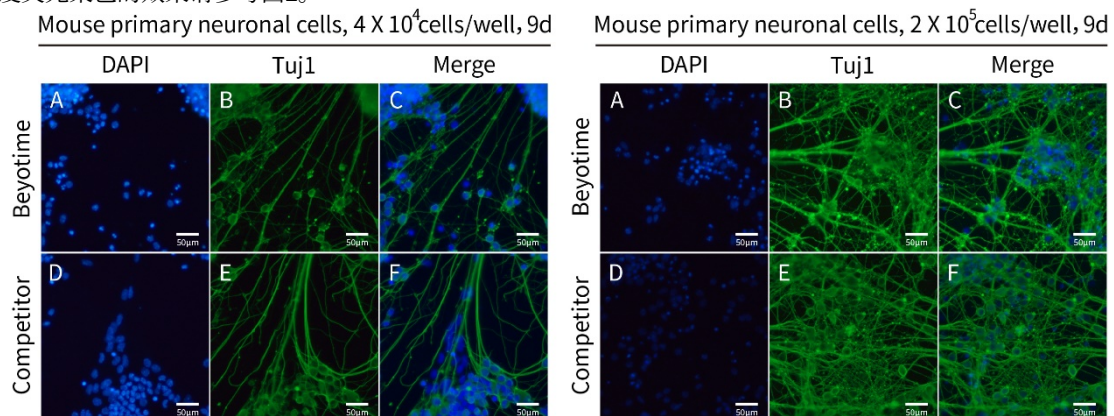


图2. 碧云天B27 Supplement (50X, Serum-free) (C0350)用于培养小鼠原代神经元细胞的生长维持效果及使用DAPI染色液、Tuj1抗体进行免疫荧光染色效果图。使用本产品或T公司(Competitor)的B27 Supplement (50X, Serum-free), 按照1:50的比例添加至Neurobasal培养基中, 持续用于培养小鼠原代神经元细胞至第9天, 随后使用DAPI染色液(C1005)和Tuj1抗体(AT809)进行免疫荧光染色检测。左图小鼠原代神经元细胞的培养密度为 $4 \times 10^4$  cells/well, 右图小鼠原代神经元细胞的培养密度为 $2 \times 10^5$  cells/well, 图A、D为DAPI染色效果图, 图B、E为Tuj1染色效果图, 图C、F为叠加效果图。如图所示, 本产品与T公司的产品相比, 具有类似维持和促进小鼠原代神经元细胞生长和活性维持的效果。Scale Bar均为50 $\mu$ m。实际检测效果会因细胞、检测仪器和实验条件的不同而存在差异, 本图仅供参考。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0350-10ml	B27 Supplement (50X, Serum-free)	10ml
C0350-50ml	B27 Supplement (50X, Serum-free)	50ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 两年有效。

### 注意事项:

- 本产品已经过滤除菌处理, 使用时应注意无菌操作, 避免污染。
- 如果发现本产品出现浑浊、沉淀等现象, 则不能继续使用, 同时请检查使用或保存时是否有环节造成污染, 后续请注意避免。
- 根据实验需求, 建议对本产品进行适量分装冻存, 避免反复冻融, 以免影响使用效果。
- L-Ala-Gln与L-Gln可以向碧云天采购: C0211 L-Ala-Gln (100X)、C0212 L-Glutamine (100X)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 完全培养基的配制

- a. 收到本产品后请立即按照说明书推荐的条件进行保存。使用时需将本产品放置于4°C解冻, 并进行分装冻存, 避免反复冻融影响神经元细胞生长和活力维持的效果。
- b. 参考下表, 按比例配制完全培养基。

Reagent	Volume (ml)
B27 Supplement (50X, Serum-free)	2
200mM L-Gln/L-Ala-Gln	0.25
Neurobasal Medium	97.75
Total Volume	100

**注1:** 请根据实际需求配制相应体积的完全培养基, 并尽快使用, 或放置于2-8°C避光保存使用2-4周; 剩余的完全培养基建议适当分装冻存于-20°C, 后续随取随用, 避免反复冻融。

**注2:** 用于原代海马神经元细胞初次接种时, 需在完全培养基中额外添加终浓度为25 $\mu$ M的L-谷氨酸; 培养至第4天, 需使用不添加L-谷氨酸的完全培养基用于后续原代海马神经元细胞的生长培养和活力维持。

**注3:** 推荐使用碧云天生产的L-Ala-Gln (100X) (C0211)或L-Glutamine (100X) (C0212)用于完全培养基的配制。

#### 2. 神经元细胞的培养

- a. 使用经预冷、无菌且终浓度为0.05mg/ml的多聚赖氨酸溶液(poly-D-lysine, MW30,000-70,000) (ST508)对培养表面(细胞培养级的玻璃片或培养皿表面)在室温下放置1-2小时或过夜进行包被。
  - 注1:** 培养原代神经元细胞时, 推荐每平方厘米的培养表面使用0.15ml的多聚赖氨酸溶液进行包被。
  - 注2:** 培养神经母细胞瘤细胞系时, 推荐每平方厘米的培养表面使用0.04ml的多聚赖氨酸溶液进行包被。
- b. 去除多聚赖氨酸溶液, 并用无菌的细胞培养级超纯水(ST875)反复冲洗两次, 以尽可能的去除残留的多聚赖氨酸溶液。
  - 注:** 由于多聚赖氨酸对细胞具有一定毒性, 因此需彻底去除。
- c. 在超净工作台中打开培养皿的盖子, 对培养表面进行通风吹干, 直至每个培养表面完全干燥。
  - 注1:** 完全干燥的培养表面可立即使用或在1-2天内使用; 也可使用无菌的细胞培养级超纯水对培养表面进行封存, 放置于4°C保存3天有效。
  - 注2:** 经4°C储存的培养表面应在用前1小时小心移除超纯水, 并放置于超净工作台中进行表面干燥。
- d. 根据标准实验室操作流程从胚胎14-18天的小鼠中分离获得原代海马/皮层神经元细胞, 或参考细胞株提供的说明书解冻冻存的原代大鼠神经元细胞。
- e. 将配制好的完全培养基放置于37°C进行预热, 并按照实验目的接种所需密度的原代神经元细胞。
  - 注1:** 建议按照150-200 cells/mm<sup>2</sup>的密度接种细胞; 或自行优化细胞接种密度。
  - 注2:** 对于原代神经元细胞, 在培养的前四天, 需在完全培养基中额外添加终浓度为25 $\mu$ M的L-谷氨酸。
- f. 将接种了细胞的培养皿放置于37°C, 5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。

g. 培养4-24小时后, 更换一半体积的新鲜完全培养基, 并继续放置于培养箱中培养。

h. 对于原代海马神经元细胞的培养: 接种3天后, 在第4天需用不含L-谷氨酸的新鲜完全培养基更换一半体积的培养基, 后续每三天重复一次此操作; 对于非原代海马神经元细胞的培养: 在接种4天后, 需更换一半体积的新鲜完全培养基, 后续每三天重复一次此操作。

注: 在完全培养基中额外添加25μM的2-巯基乙醇, 可提高原代海马神经元细胞的长期存活率。

### 常见问题:

1. 几种配方的B27无血清添加剂有什么区别?

B27 Supplement (50X, Serum-free) (C0350)是用于多种类型神经元细胞长期生长和活性维持的完整配方; B27 Supplement (50X, Minus Insulin) (C0352)去除了胰岛素, 是用于支持在额外添加胰岛素的情况下对海马和其他CNS神经元生长状态的研究; B27 Supplement (50X, Minus Anti-oxidant) (C0355)去除了抗氧化剂成分, 是用于研究氧化损伤, 细胞凋亡, 神经元自由基损伤的首要选择; B27 Supplement (50X, Minus Vitamin A) (C0357)去除了诱导神经元细胞分化的维生素A, 是用于神经干细胞生长和增殖的理想选择[4]。

2. B27无血清添加剂与N-2无血清添加剂有什么区别?

B27添加剂主要用于神经干细胞及各类型神经元细胞的生长和活性维持; N-2添加剂主要用于培养神经母细胞瘤或来自PNS/CNS的有丝分裂后的神经元细胞。

3. 添加了B27添加剂的神经元细胞培养基, 可保存多久?

由于B27添加剂中含有多种细胞因子及抗氧化剂等成分, 因此将B27添加到培养基中后, 需尽快在2-4周内使用, 否则会影响B27添加剂维持神经元细胞生长的效果。

4. 可以在37°C水浴或者培养箱中解冻B27添加剂吗?

不建议在37°C条件下解冻B27添加剂, 推荐使用2-8°C过夜或室温2小时解冻, 以保证B27添加剂的最佳使用效果。

### 参考文献:

1. Brewer GJ, Torricelli JR, Evege EK, Price PJ. J Neurosci Res. 1993. 35(5):567-76.
2. Roth S, Zhang S, Chiu J, Wirth EK, Schweizer U. J Trace Elem Med Biol. 2010. 24(2):130-7.
3. Brewer GJ, Cotman CW. Brain Res. 1989. 494(1):65-74.
4. Chen Y, Stevens B, Chang J, Milbrandt J, Barres BA, et al. J Neurosci Methods. 2008. 171(2):239-47.

### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0211	L-Ala-Gln (100X)	100ml
C0212	L-Glutamine (100X)	100ml
C0215-100ml	HEPES Solution (1M, pH7.3, 细胞培养用)	100ml
C0215-500ml	HEPES Solution (1M, pH7.3, 细胞培养用)	500ml
C0216-500ml	细胞外液(Extracellular Solution)	500ml
C0218	Hanks' Balanced Salt Solution	500ml
C0219	Hanks' Balanced Salt Solution (with Ca <sup>2+</sup> & Mg <sup>2+</sup> )	500ml
C0220	7.5% NaHCO <sub>3</sub> 溶液	100ml
C0221A	PBS	500ml
C0221B	PBS (pH7.4, Low Endotoxin, Cell Culture Grade)	500ml
C0221D	D-PBS	500ml
C0221G	D-PBS (with Ca <sup>2+</sup> & Mg <sup>2+</sup> )	500ml
C0222	青霉素-链霉素溶液(100X)	100ml
C0223-100ml	青霉素-链霉素-庆大霉素溶液(100X)	100ml
C0224-100ml	青霉素-链霉素-两性霉素B溶液(100X)	100ml
C0331-100ml	Sodium Pyruvate (100X)	100ml
C0332-100ml	MEM Non-Essential Amino Acids Solution (100X)	100ml
C0335-5ml	N-2 Supplement (100X)	5ml
C0335-25ml	N-2 Supplement (100X)	25ml
C0341-10ml	ITS Media Supplement (100X)	10ml
C0343-10ml	ITS-A Media Supplement (100X)	10ml
C0345-10ml	ITS-X Media Supplement (100X)	10ml
C0350-10ml	B-27 Supplement (50X, Serum-free)	10ml
C0350-50ml	B-27 Supplement (50X, Serum-free)	50ml
C0352-10ml	B-27 Supplement (50X, Minus Insulin)	10ml

C0352-50ml	B-27 Supplement (50X, Minus Insulin)	50ml
C0355-10ml	B-27 Supplement (50X, Minus Anti-oxidant)	10ml
C0355-50ml	B-27 Supplement (50X, Minus Anti-oxidant)	50ml
C0357-10ml	B-27 Supplement (50X, Minus Vitamin A)	10ml
C0357-50ml	B-27 Supplement (50X, Minus Vitamin A)	50ml
C0901-500ml	293无血清培养液(含L-谷氨酰胺)	500ml
C0901-1L	293无血清培养液(含L-谷氨酰胺)	1L
P3378-20mg	Recombinant Human Insulin (Powder)	20mg
P3378-100mg	Recombinant Human Insulin (Powder)	100mg
P3378-500mg	Recombinant Human Insulin (Powder)	500mg
ST2041-5g	L-丙胺酰-谷氨酰胺( $\geq 99.5\%$ , BioReagent)	5g
ST2041-25g	L-丙胺酰-谷氨酰胺( $\geq 99.5\%$ , BioReagent)	25g
ST2041-100g	L-丙胺酰-谷氨酰胺( $\geq 99.5\%$ , BioReagent)	100g
ST508	Poly-D-lysine/多聚赖氨酸	10mg

Version 2024.04.11