

# BrainPhys™ 神经元培养基

用于提高神经元功能性

## 目录

- 3 简介
- 4 用于培养原代神经元的BrainPhys™神经元培养基
- 6 用于培养hPSC衍生神经元的BrainPhys™神经元培养基
- 7 产品信息
- 7 辅助工具

## Scientists Helping Scientists™

STEMCELL Technologies自1993年起即一直致力于为高品质细胞培养基和试剂设定行业标准。秉承Scientists Helping Scientists的宗旨, 我们已经为从各种组织中分选的干细胞研发了超过1500种专业产品。BrainPhys™是一种新型神经元基础培养基, 它基于Dr. Cedric Bardy和Dr. Fred H. Gage<sup>1</sup>所研发的配方, 用于原代神经元和hPSC衍生神经元的培养。请访问[www.BrainPhys.com](http://www.BrainPhys.com)了解更多关于BrainPhys神经元培养基的信息。

### BrainPhys™神经元培养基及添加物试剂盒

可让您获得具有最佳神经元功能和存活率的原代细胞或hPSC衍生神经元。试剂盒包括BrainPhys™神经元培养基和含有或不含N2添加物-A的NeuroCult™ SM1神经元添加物。

**封面:** 在BrainPhys™神经元培养基中体外培养21天的大鼠E18皮层神经元。

简介

BrainPhys™是一种成分确定且不含血清的新型神经元培养基，用于培养原代神经元以及人多能干细胞（hPSCs）衍生的神经元，包括胚胎干（ES）和诱导多能干（iPS）细胞。传统的培养基（如：Neurobasal®培养基和Dulbecco's改良Eagle培养基（DMEM））支持细胞存活，但会抑制神经细胞活性，包括：动作电位的产生和突触的活性（表1）<sup>1</sup>。BrainPhys™由Dr. Fred H. Gage实验室的Dr. Cedric Bardy研发，可更好地支持神经元在体外的功能性<sup>1</sup>。在BrainPhys™中进行成熟培养的神经元经历与中枢神经系统（CNS）生理条件相似的生长环境，因此在培养物中具有突触活性的神经元的比例相对较多。此外，BrainPhys™增强了神经元在体外培养中的生理相关性，从而提高了实验发现向临床应用转化的成功率。

作为一个灵活的神经元基础培养基，BrainPhys™在加入了适当的神经元添加物、细胞因子或小分子后，可应用于多种神经元培养和分化流程之中。由于BrainPhys™支持神经元功能，因此在无需更换培养基的情况下即可在培养物中进行各项针对神经元活性的检测（如：钙成像、微电极阵列记录（MEA），以及光遗传学等）。这一点极大简化了实验流程，最大限度减少了因培养环境发生改变对细胞造成的影响。

BrainPhys™神经元培养基的应用

- 培养原代小鼠或大鼠神经元
- 分化人ES/iPS细胞衍生的神经元并促进其成熟
- 通过微电极阵列记录检测神经元活性
- 使用荧光的活细胞成像，比如钙成像和光遗传学刺激和记录
- 体细胞向神经元的转分化（Lineage Conversion）<sup>1</sup>

优势

- 生理相关性。**与大脑的胞外环境更加相似。
- 活性。**增强神经元功能，具突触活性的神经元比例更高。
- 流程化。**无需更换培养基即可进行功能性检测。
- 通用性。**支持由ES/iPS细胞分化的神经元及CNS原代神经元的长期培养。
- 稳定性。**严格的原料筛选和质量控制可确保最大化地减少批次间的差异。

表1. 培养基的性质<sup>1</sup>

| 性质        | DMEM/F12 | NEUROBASAL® | BRAINPHYS™ |
|-----------|----------|-------------|------------|
| 培养基性质     |          |             |            |
| 无机盐浓度     | ✓        | 非生理相关       | ✓          |
| 血糖水平      | 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          | ✓          |
| 自发网络钙动态   | 受损       | 未测试         | ✓          |
| 兴奋性突触活性   | 阻滞       | 低           | ✓          |
| 抑制性突触活性   | 阻滞       | 阻滞          | ✓          |

对勾表示了与生理条件相似和支持的活性（据Bardy et al.<sup>1</sup>）。



## 原代神经元培养

长期以来，原代神经元培养一直是一种在可控的环境中研究神经生物学强大系统。为获得具有良好形态和功能的健康神经元，使用高品质的培养基和添加物即显得至关重要。要获得最佳的神经元功能和存活率，我们建议将小鼠或大鼠神经元接种于传统的培养基（如：NeuroCult™ 神经元基础培养基或Neurobasal® 培养基，加入NeuroCult™ SM1神经元添加物或B-27®添加物）中，然后在体外培养5天后将细胞过渡到加入了NeuroCult™ SM1的BrainPhys™ 中进行成熟培养。

经过14天和21天培养后，在BrainPhys™ 中有大量成熟的活神经元，培养物中细胞聚集凝块的现象非常少，这些神经元生成了广泛的神经突及分支（图1A, C）。其形态与在传统培养基中生成的神经元形态一致（图B, D）。无论初始培养使用的是NeuroCult™ 神经元基础培养基或Neurobasal® 培养基，经21天培养后，在BrainPhys™ 中进行成熟培养的活神经元数量都远远超过一直培养在以上两种培养基中的神经元（图2）。

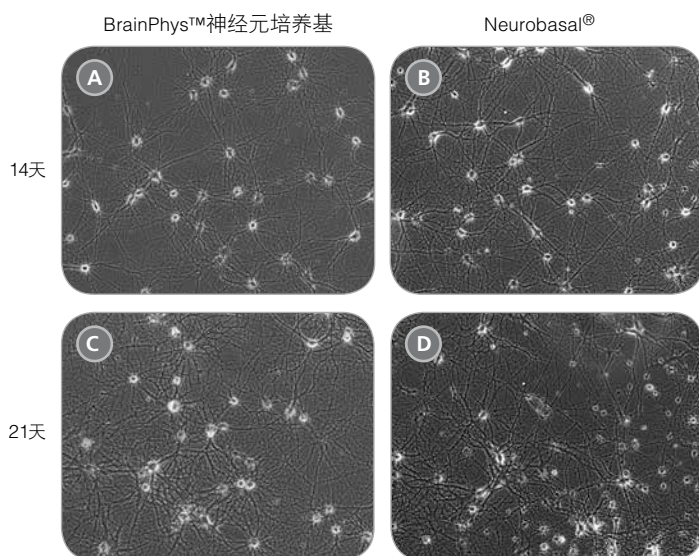


图1. 在BrainPhys™ 中进行成熟培养的大鼠神经元十分健康并且形态成熟

(A, C) 将E18大鼠原代皮层神经元接种于加入了NeuroCult™ SM1神经元添加物的NeuroCult™ 神经元基础培养基中。培养5天后，将细胞过渡到加入了NeuroCult™ SM1添加物的BrainPhys™ 中培养，每隔3 - 4天进行半换液，培养至14天 (A) 或21天 (C)。(B, D) 将E18大鼠原代皮层神经元接种于加入了NeuroCult™ SM1添加物的Neurobasal® 培养基中培养14天 (B) 或21天 (D)。在BrainPhys™ 中成熟的神经元形态与在传统神经元培养基中成熟的神经元一致。

与在传统培养基中的细胞相比，在BrainPhys™ 中培养的神经元在功能上更加成熟，显示更强的突触活性（图3）。自发兴奋性（AMPA受体介导）和抑制性（GABA受体介导）突触电流的比例和幅度都更大。此外，使用MEA系统（Axion Biosystems），在BrainPhys™ 中培养的平均放电率和活性电极的百分比随时间显著增加，而这两者在以传统培养基（TNM）培养的神经元中均保持较低（图4）。染色结果也证实，这些神经元在表型上也达到成熟，具有高度分支形态并适当表达MAP2和Synapsin 1（图5）。

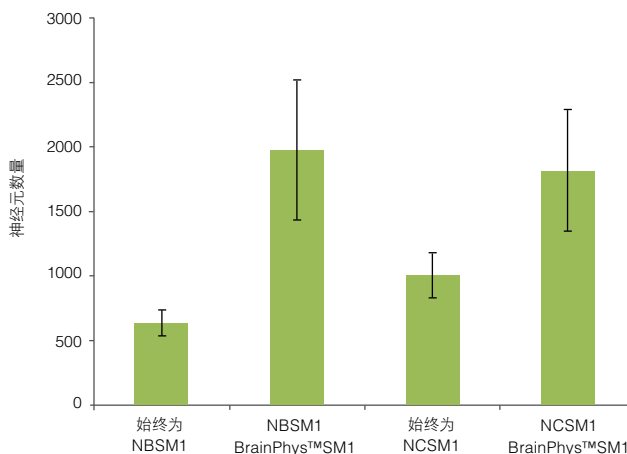
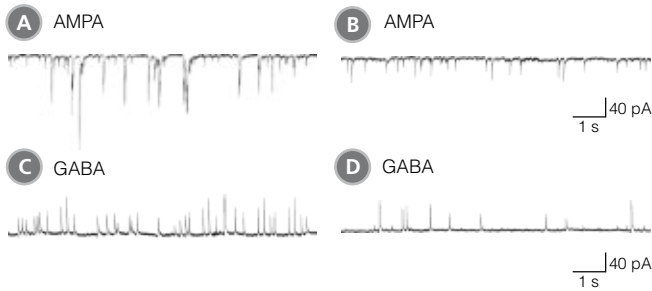


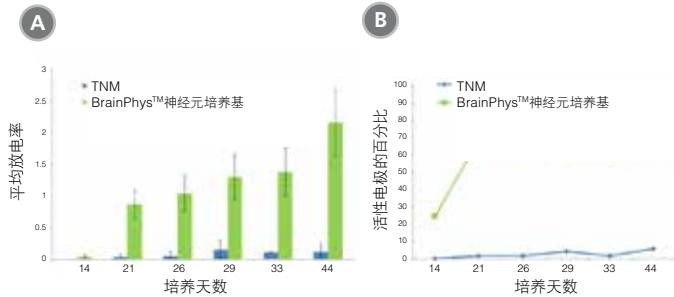
图2. 在BrainPhys™ 中进行成熟培养的原代神经元培养物中含有更多的神经元

将E18大鼠原代皮层神经元接种于NeuroCult™ 神经元基础培养基（NCSM1）或Neurobasal® 培养基（NBSM1）中，两者都加入了NeuroCult™ SM1。培养5天后，将其中的一半培养物过渡到添加了NeuroCult™ SM1的BrainPhys™ 中，每隔3 - 4天进行半换液。另一半培养物则仍以用于接种的原培养基继续维持培养。无论初始接种使用以上哪种培养基，经过21天后，在BrainPhys™ 中的神经元数量都多于一直培养在NeuroCult™ 神经元基础培养基或Neurobasal® 培养基中的神经元（ $n = 2$ , 平均值 ± SEM [每个实验分别设置三个平行孔]）。



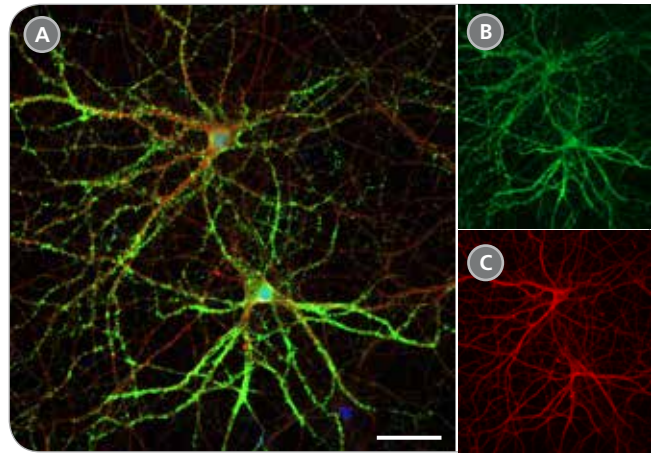
**图3.** 在经典电生理学检测中，以BrainPhys™进行成熟培养的大鼠神经元显示更强的兴奋性和抑制性突触活性

(A, C) 将E18大鼠原代皮层神经元接种于添加了NeuroCult™ SM1的NeuroCult™ 神经元基础培养基中。培养5天后，将细胞过渡到添加了NeuroCult™ SM1的BrainPhys™中继续培养，每隔3 - 4天进行半换液，培养至21天。(B, D) 将E18大鼠原代皮层神经元接种于传统配方，即加入NeuroCult™ SM1添加物的Neurobasal®培养基，共培养21天。在BrainPhys™中成熟的神经元(A, C)显示自发兴奋性(AMPA受体介导, A)和抑制性(GABA受体介导, C)突触电流。以BrainPhys™进行成熟培养的神经元的自发突触电流在比例和幅度上始终比在传统神经元培养基中培养的神经元(B, D)更大。上图为代表图例。



**图4.** 以BrainPhys™进行成熟培养的原代神经元培养物培养物在微电极阵列记录检测中显示更高的电活性

将E18大鼠原代皮层神经元接种于传统神经元培养基(NCSM1)或Neurobasal培养基(TNM; 含NeuroCult™ SM1的Neurobasal®培养基)中，两者都加入了NeuroCult™ SM1。培养5天后，将其中的一半培养物过渡到添加了NeuroCult™ SM1的BrainPhys™中，每隔3 - 4天进行半换液。另一半培养物则仍以TNM继续维持培养。使用微电极阵列(MEA)系统(Axion Biosystems)每周测定两次神经元培养物的电活性。(A) 在BrainPhys™中培养的神元元的平均放电率随时间显著增加，而以TNM维持培养的神经元中的平均放电率则一直处于较低水平( $n = 1$ ; 平均值  $\pm$  SEM, 128个电极)。(B) 在BrainPhys™中成熟的神元元的活性电极( $> 0.005\text{Hz}$ )百分比从第14天的24%增加至第21天的69%，然后在第21 - 44天稳定在60 - 70%。相比之下，在相同的6周时间内，在TNM培养条件下只有 $< 5\%$ 的电极具活性。



**图5.** 在BrainPhys™中成熟的大鼠突触前标志物的表达

将E18大鼠原代皮层神经元接种于加入了NeuroCult™ SM1的NeuroCult™ 神经元基础培养基中。培养5天后，将细胞过渡到加入了NeuroCult™ SM1的BrainPhys™中，每隔3 - 4天进行半换液。21天后，培养物显示广泛的树突棘结构，突触前标志物Synapsin(A-B, 绿色)呈离散点状沿细胞体和树突分布(MAP2, A, C, 红色)，表明此时的神经元已达到形态成熟状态。比例尺: 50  $\mu\text{m}$ 。



**试用BRAINPHYS™**

申请BrainPhys™免费试用装

[www.stemcell.com/BrainPhysSample](http://www.stemcell.com/BrainPhysSample)



**海报**

细胞重编程技术和神经科学

[www.stemcell.com/iPSCNeuralPoster](http://www.stemcell.com/iPSCNeuralPoster)

**现已上市**

不添加酚红的BrainPhys™

## hPSC衍生的神经元培养

hPSCs, 包括ES和iPS细胞对于研究人神经发育和疾病建模方面极有价值。通过以患者的样本生成iPS细胞, 可以获得疾病及患者特异性神经干细胞、神经元和神经胶质细胞。当前发表的生成不同神经元的流程通常在基础培养基中加入神经元添加物(如: NeuroCult™ SM1 (基于已发表的B27配方<sup>2</sup>)和N2添加物<sup>3</sup>)、多种细胞因子和小分子。BrainPhys™基础培养基为hPSC向神经祖细胞(NPC)的分化, 以及促进下游神经元的成熟提供了一个更具神经生理活性的培养系统, 该系统更好地模拟了人脑的内部环境<sup>1</sup>。BrainPhys™也可用于将体细胞直接转化为神经元(Direct Lineage Conversion), 而无需经过hPSC这一中间程序<sup>1</sup>。

将BrainPhys™培养基与NeuroCult™ SM1、N2添加物-A、GDNF、BDNF、cAMP一同使用, 可促使hPSC衍生的神经祖细胞有效生成神经元。在BrainPhys™中分化14天后, 神经元表达突触标志物Synapsin 1和成熟神经元标志物MAP2, 与使用传统基础培养基(DMEM/F12)所培养的神经元一致(图6A-B)。在BrainPhys™中分化和成熟44天后, 大量具有广泛分支的神经元形成密集的神经网络, 这些神经网络可在相差显微镜下被观察到(图7A)。相比之下, 分化和成熟于传统培养基中的神经元显示增加的神经元空泡化和细胞碎片(图7B)。标记分析证实在BrainPhys™中培养的神经元在体外44天后表达MAP2和Synapsin 1(图6C)。膜片钳分析(Patch Clamp Analysis)显示, 与在传统基础培养基中培养的细胞相比, 在BrainPhys™中培养的神经元在功能上更加成熟, 显示更强的突触活性(图8), 神经元自发兴奋性(AMPA受体介导)和抑制性(GABA受体介导)突触电流的频率和幅度都更大。由hPSC衍生的神经元已成功在BrainPhys™中培养达70天。

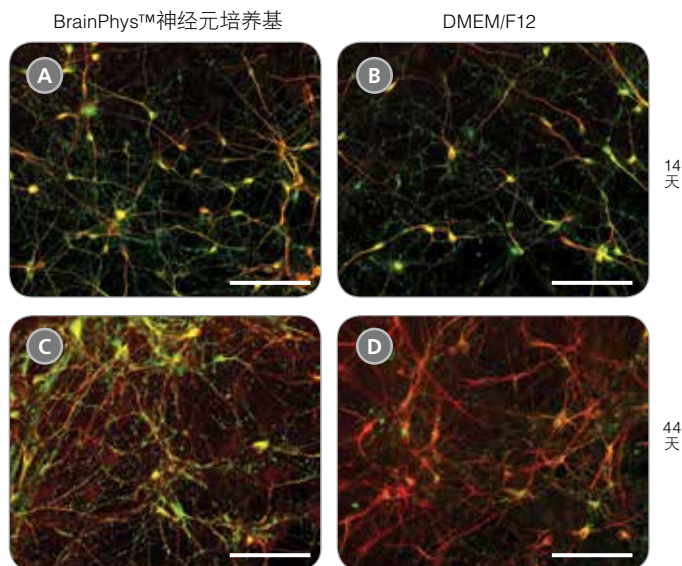


图6. 在BrainPhys™中分化14天后的hPSC所衍生神经元表达成熟神经元标志物

首先使用STEMdiff™神经诱导培养基以基于类胚体的流程将H9细胞生成神经祖细胞(NPCs)。然后, 将NPCs培养于BrainPhys™中, 并加入2% NeuroCult™ SM1添加物、1% N2添加物A、20 ng/mL GDNF、20 ng/mL BDNF、1 mM db-cAMP和200 nM抗坏血酸, 以启动神经元的分化。分化14天后, 神经元形成较长的突起, 并表达Synapsin 1 (A-B, 绿色) 和MAP2 (A, C, 红色)。比例尺: 50 μm。

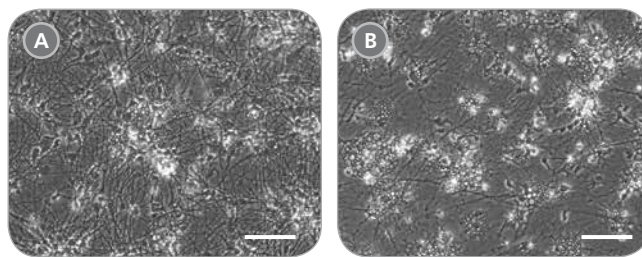
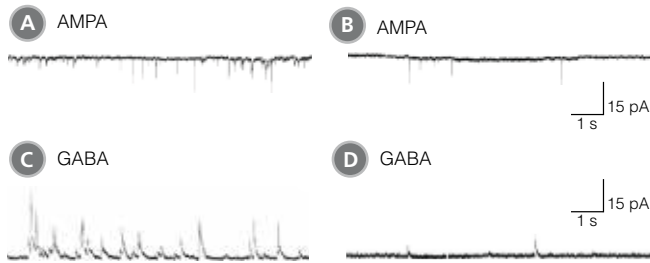


图7. 在BrainPhys™、NeuroCult™ SM1和N2添加物中生成的hPSC衍生神经元健康且表型正常

使用STEMdiff™神经诱导培养基以基于类胚体的流程将H9细胞生成NPCs。然后, 将NPCs培养于(A) BrainPhys™中, 并加入2% NeuroCult™ SM1添加物, 1% N2A, 20 ng/mL GDNF, 20 ng/mL BDNF, 1 mM db-cAMP和200 nM抗坏血酸, 以启动神经元的分化; 或在相同的添加物条件下培养于(B) DMEM/F12中。在两培养基中均培养44天。与在DMEM/F12中分化的培养物相比, 在BrainPhys™中由NPCs分化的神经元培养物显示广泛的神经突和变少的细胞碎片。比例尺: 100 μm。





**图8. 在BrainPhys™中进行成熟培养的由hPSC衍生的神经元显示更强的兴奋性和抑制性突触活性**

首先使用STEMdiff™神经诱导培养基以基于类胚体的流程将H9细胞生成NPCs。然后，将NPCs接种于(A、C) BrainPhys™中培养44天，其中加入2% NeuroCult™ SM1添加物、1% N2添加物-A、20 ng/mL GDNF、20 ng/mL BDNF、1 mM db-cAMP和200 nM抗坏血酸，以启动神经元的分化；或使用(B、D)含相同添加物的DMEM/F12将其培养44天。(A、C)在BrainPhys™中成熟的神经元显示自发兴奋性(AMPA受体介导，A)和抑制性(GABA受体介导，C)突触电流，其频率和幅度比在DMEM/F12中培养的神经元(B、D)更大。上图为代表图例。

## 产品信息

用于培养和成熟的神经元培养基及添加物

| 产品                            | 规格     | 产品号 # |
|-------------------------------|--------|-------|
| BrainPhys™神经元培养基              | 500 mL | 05790 |
| 不添加酚红的BrainPhys™              | 500 mL | 05791 |
| BrainPhys™神经元培养基和SM 1试剂盒*     | 1盒     | 05792 |
| BrainPhys™神经元培养基N2-A/SM 1试剂盒* | 1盒     | 05793 |
| NeuroCult™ SM1神经元添加物 (50X)    | 10 mL  | 05711 |
| N2添加物-A (100X)                | 5 mL   | 07152 |
| N2添加物-B (100X)                | 5 mL   | 07156 |

\*试剂盒包含基础培养基和添加物

## 参考文献

- Bardy C et al. (2015) Proc Natl Acad Sci 112 (20) E2725-E2734.
- Brewer GJ et al. (1993) J Neurosci Res. 35(5):567-76.
- Bottenstein JE (1985) Cell Culture in the Neurosciences: Current Topics in Neurobiology. New York: Plenum Press: 3-40.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2016。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists和NeuroCult™均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。BrainPhys™是Salk Institute for Biological Studies的注册商标，STEMCELL Technologies具有独家销售许可。Neurobasal®是Thermo Fisher Scientific的注册商标。B-27®是Southern Illinois University的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。STEMCELL已作出一切合理的努力，以确保STEMCELL及其供应商所提供信息的正确性，因而对此类信息的准确性或完整性将不另作保证或陈述。

## 辅助工具

用于神经元分化的小分子\*

| 分子                      | 通路/靶标                                                | 产品号 # |
|-------------------------|------------------------------------------------------|-------|
| Purmorphamine           | Hedgehog pathway activator<br>Activates smoothened   | 72202 |
| All-Trans Retinoic Acid | Retinoid pathway activator<br>Activates RAR          | 72262 |
| CHIR99021               | WNT pathway activator<br>Inhibits GSK3               | 72052 |
| DAPT                    | Notch pathway inhibitor<br>Inhibits γ-secretase      | 72082 |
| SB431542                | TGF-β pathway inhibitor<br>Inhibits ALK5, ALK4, ALK7 | 72232 |

\*此处仅为部分产品，请访问[www.stemcell.com/smallmolecules](http://www.stemcell.com/smallmolecules)了解更多

用于神经元分化的抗体\*

| 产品                    | 宿主 | 产品号 # |
|-----------------------|----|-------|
| 神经元β-微管蛋白III抗体，克隆TUJ1 | 小鼠 | 60052 |
| 抗人巢蛋白抗体，克隆10C2        | 小鼠 | 60091 |
| MAP2抗体，克隆AP20         | 小鼠 | 60049 |
| GFAP抗体                | 大鼠 | 60128 |

\*此处仅为部分产品，请访问[www.stemcell.com/antibodies](http://www.stemcell.com/antibodies)了解更多

用于神经元分化的细胞因子\*

| 产品      | 规格     | 产品号 # |
|---------|--------|-------|
| 人重组BDNF | 10 µg  | 78005 |
| 人重组bFGF | 50 µg  | 78003 |
| 人重组EGF  | 500 µg | 78006 |

\*此处仅为部分产品，请访问[www.stemcell.com/cytokines](http://www.stemcell.com/cytokines)了解更多

Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

中国上海市黄浦区南昌路45号城汇大厦17楼B单元，邮编200020

电话: 400 885 9050 • E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

欲了解全球联系方式，请访问公司网站。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。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。

文档号 #27010CN 版本 3.0.2 2016年11月

