

少突胶质细胞

1.组织分离

- 1.1 多聚赖氨酸包被培养板
- 1.2 冰上解剖获取1日龄小鼠脑组织并分离皮层与脑膜
- 1.3 剪碎皮层→1 mm³组织块，0.25%胰酶37 °C消化3-5 min，完全培养基终止消化，吹打成悬液→70 μm滤网过滤
- 1.4 细胞计数→接种T75瓶，密度：10×10⁶/瓶

2.原代培养

- 2.1 每3天换全液
- 2.2 第二天可去除未贴壁细胞

3.前体培养

- 3.1 每2天换1/4液+补1/4前体培养基
- 3.2 前体细胞分离
- 3.3 计数→接种未包被瓶；密度：3×10⁴/ml
- 3.4 贴壁5-7天→形成细胞球

4.分化培养

- 4.1 多聚赖氨酸包被瓶或分化培养基
- 4.2 37 °C CO₂培养5-7天→成熟少突胶质细胞

常见问题解析

1.混合细胞培养阶段细胞增殖不良或死亡，为什么？

①确保起始接种的细胞浓度适当。接种后第2天，可轻轻摇晃培养基并更换液体，去除不能贴壁的死亡细胞，减少死亡细胞对已贴壁细胞的影响；②检查培养基中是否添加了所有必需的成分；③使用多聚赖氨酸包被的T75瓶时，确保使用PBS清洗至少两遍，以减少多聚赖氨酸过高浓度产生的细胞毒性。

2.分化培养阶段细胞不能分化为少突胶质细胞或分化不完全，为什么？

①确保分化培养基包含必需的因子，例如神经营养因子（CNTF）等；②对T75瓶进行多聚鸟氨酸包被处理，增强细胞的粘附能力，促进细胞分化。

3.分化培养阶段少突胶质细胞形态异常或不能分化为成熟少突胶质细胞，为什么？

①在进行少突胶质细胞前体细胞的传代或解离时，应采取温和的处理方式，如使用酶消化法，避免过度操作引起细胞损伤；②少突胶质细胞整体培养时间长、过程多，应提供始终稳定一致的培养条件，例如更换培养基时应迅速且温和，以减少环境变化引起的细胞应激反应。

参考文献

- [1] Liu H, Yuan Y, Li J, et al. Establishment of an efficient and economical method for primary oligodendrocyte progenitor cell culture from neonatal mouse brain [J]. Brain Res. 2025, 1853:149519.
- [2] Chen Y, Balasubramaniyan V, Peng J, et al. Isolation and culture of rat and mouse oligodendrocyte precursor cells [J]. Nat Protoc. 2007, 2(5):1044-51.
- [3] Peters A. A fourth type of neuroglial cell in the adult central nervous system [J]. J Neurocytol. 2004, 33(3):345-57.