

大鼠骨髓间充质干细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPR026
组织来源	大鼠骨髓组织
细胞形态	成纤维细胞样, 贴壁生长。
规格	5x10 ⁵ 细胞数量, T25 细胞培养瓶。
培养基	含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等。
培养条件	气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。
消化液	0.25%胰蛋白酶。
传代特性	可传 5 代左右, 3 代以内最佳。
传代比例	1:2
换液频率	每 3-4 天换液一次。

二、细胞描述

大鼠骨髓间充质干细胞 (BMSC) 分离自骨髓; 骨髓是机体的造血组织, 位于身体的许多骨骼内。成年动物的骨髓分两种: 红骨髓和黄骨髓。红骨髓能制造红细胞、血小板和各种白细胞。血小板有止血作用, 白细胞能杀灭与抑制各种病原体, 包括细菌、病毒等; 某些淋巴细胞能制造抗体。因此, 骨髓不但是造血器官, 它还是重要的免疫器官。骨髓是存在于长骨 (如肱骨、股骨) 的骨髓腔和扁平骨 (如髌骨) 的疏松骨质间的网眼中, 是一种海绵状的组织, 能产生血细胞的骨髓略呈红色, 称为红骨髓。出生时, 红骨髓充满全身骨髓腔, 随着年龄增大, 脂肪细胞增多, 相当部分红骨髓被黄骨髓取代, 最后几乎只有扁平骨骨髓腔中有红骨髓。骨髓基质系统内存在的骨髓间充质干细胞是一种除造血干细胞以外的、具有高度自我更新能力和多向分化潜能的干细胞, 可以向骨、软骨、肌组织、皮肤、脂肪、神经等多种组织分化, 因此可以作为组织工程中的种子细胞。在骨髓中, BMSC 占骨髓有核细胞总数的 0.001%-0.1%, 含量极低。骨髓间充质干细胞的体外培养条件要求较高, 在培养过程中, 受贴壁时间、种植密度、血清含量、培养温度和培养基 pH 值等条件的影响。

三、提取方法简介

大鼠骨髓间充质干细胞采用冲洗骨髓、密度梯度离心、差速贴壁法结合培养基筛选制备而来, 细胞总量约为 5 × 10⁵ cells/瓶。

四、质量检测

大鼠骨髓间充质干细胞经 CD44 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。

五、细胞收到后处理方式

- 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、请在显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (物镜 4×, 10×) 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, 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。

4、备注: 运输用的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。

六、细胞传代

- 1、在生物安全柜内, 打开培养瓶瓶口, 收集瓶内的培养基。
- 2、向培养瓶内加入 3mL 无菌的 1×PBS, 水平放置培养瓶, 使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积, 吸除 PBS。
- 3、向瓶内加入 1mL 0.25%胰蛋白酶 (含 EDTA), 浸润底面后放入 37°C CO₂ 培养箱中孵育 1~2min。
- 4、将培养瓶倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起, 若全部消化下来则直接向培养瓶内加入 2mL 完全培养基, 将悬液吸入 15mL 离心管。

注: 如还有部分细胞未消化下来, 可采用分步消化:

- 1) 准备一个无菌的 15mL 离心管, 加入 2mL 完全培养基。
- 2) 将消化下来的细胞吸入上述离心管内中, 向之前消化的培养瓶中加入 1mL 0.25%胰蛋白酶继续消化 2min 左右, 轻拍培养瓶, 待 95%以上的细胞脱落后加入 2mL 完全培养基, 将细胞悬液移入到上述 15mL 离心管。
- 5、1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 用 2mL 完全培养基重悬细胞。
- 6、取 2 个 T25 细胞培养瓶, 各加入 4mL 完全培养基, 每瓶分别加入上述 1mL 重悬细胞液。
- 7、水平放置培养瓶, 震荡混匀后, 37°C 5% CO₂ 培养箱中静置培养。

七、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(2-5μg/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。

八、注意事项

- 1、完全培养基 4°C 调价下可稳定储存 3 个月。
- 2、消化过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁以及生长状态。
- 3、建议受到细胞后, 前 3 天内每个倍数各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 以便必要时与技术人员沟通。
- 4、由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时与我们联系, 详细告知细胞的具体情况, 以便我们技术人员跟进。