

产品中文说明书

OriCell Strain Balb/c小鼠骨髓间质干细胞

货号: **MUCMX-01001**

目录

产品基本信息.....	1
产品介绍.....	1
产品特性.....	1
产品应用领域.....	1
处理原则.....	2
OriCell Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的复苏和培养.....	2
OriCell Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的传代.....	4
OriCell Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的冻存.....	6
参考文献.....	6



产品基本信息

产品名称	Balb/c小鼠骨髓间质干细胞
货号	MUCMX-01001
规格	1×10 ⁶ 个细胞/管
冻存代次	P6
保存条件	液氮



警告：产品冻存液中含有DMSO，具有潜在的生物公害，操作者请谨慎处理。

产品介绍

骨髓间充质干细胞是一种能分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞的多能干细胞。因其具有强大的增殖能力和免疫调节功能，故被广泛应用于组织工程，细胞治疗和基因治疗。

OriCell Balb/c小鼠骨髓间质干细胞取自Balb/c小鼠的骨髓，拥有强大的自我更新能力并具有多向分化潜能。

质量控制：

- 本产品经过了细菌/真菌、支原体、内毒素检测。
- 本产品还经过细胞复苏活力检测，细胞周期检测，分化潜能鉴定。

该产品仅提供给进一步科研使用，不可应用于临床治疗等其他方面。

产品特性

- 操作规范条件下，本产品有良好的传代能力，至少能传5代。
- 本产品有良好的分化潜能，能分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等。
- 流式检测鉴定CD29、CD44、Sca-1阳性 (>70%)，CD117阴性 (<5%)。

产品应用领域

目前，Balb/c小鼠骨髓间质干细胞作为一个研究热点被广泛应用于再生医学和组

织工程（特别是在骨、心血管和神经系统等疾病领域）。

OriCell Balb/c小鼠骨髓间质干细胞可作为细胞模型被应用于增殖、移植和分化研究，以及体内外的免疫反应的鉴定。

处理原则

1. 要在无菌的条件下处理该产品。
2. Balb/c小鼠骨髓间质干细胞一旦培养起来，请冻存一部分细胞作为备份。



注意：Balb/c小鼠骨髓间质干细胞能被冻存或复苏至少一次。

3. 我们强烈建议用于科研的细胞代次不超过10代。
4. 我们建议一般细胞接种密度是 $(2.5\sim 4.0) \times 10^4$ 个活细胞/cm²，具体数量请根据细胞状态加以调整。



注意：我们强烈建议使用OriCell培养基和其他相关试剂以达到最理想的培养效果。

OriCell Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的复苏和培养

所需试剂

- OriCell Balb/c小鼠骨髓间质干细胞完全培养基（货号：MUCMX-90011）

Balb/c小鼠骨髓间质干细胞的复苏和培养

1. 水浴锅37°C预热。
2. 准备好Balb/c小鼠骨髓间质干细胞完全培养基，温浴到37°C。
3. 取15 mL离心管中加入9 mL完全培养基。
4. 从液氮中取出冻存的骨髓间质干细胞，立即放入-80°C冰箱（目的是让进入冻存管的液氮挥发）。
5. 在-80°C放置2~3 min后，取出冻存细胞，将冻存管迅速放入37°C温水中，快速晃动使管中内含物尽快融化。仔细观察，待冻存管内含物完全融化后取出。



注意：

- ① 尽可能避免水没过管帽，以减少污染的风险。
 - ② 要快速完成细胞复苏过程，融化过程时间过长，会造成复苏后的细胞活性较差。
6. 用70%~75%的酒精擦拭消毒冻存管口的外壁。

7. 在超净台中打开冻存管，用吸管将细胞冻存悬液转移至装有9 mL完全培养基的15 mL离心管中。注意尽量避免产生气泡。
8. 为了减少细胞损失，再往冻存管中加入1 mL完全培养基，稍微吹打，收集至离心管中。
9. 将细胞悬液经 $250 \times g$ （对应于Eppendorf 5810R离心机是1134 rpm）离心5 min。
10. 离心后尽量去除上清液，加入1~2 mL的完全培养基（已预热到 37°C ），轻轻吹打混匀细胞沉淀。
11. 将细胞全部接种到1个T25培养瓶或底面积相当的培养器皿中，加入足量的完全培养基。轻轻摇晃细胞培养器皿使细胞均匀分布。
12. 放入 37°C 、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中培养。
13. 复苏后的第2天，给复苏的细胞换用新鲜的完全培养基（已预热到 37°C ）。
14. 之后，每2天给细胞换新鲜的完全培养基直到细胞达80%~90%的汇合度。
15. 当细胞达80%~90%的汇合度，进行消化传代。



注意：为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。换液时只取当天所需用量的培养基进行预热。

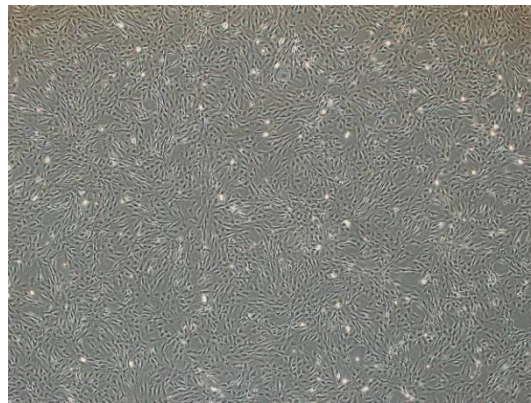


图1 已贴壁的 Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞

OriCell Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的传代

所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- OriCell Balb/c小鼠骨髓间质干细胞完全培养基（货号：MUCMX-90011）

传代

1. 将Balb/c小鼠骨髓间质干细胞完全培养基、1×PBS、0.25%Trysin-0.04%EDTA预热至37°C。
2. 吸去培养基。
3. 用1×PBS（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）洗涤细胞2~3次，注意不要损害贴壁的细胞。
4. 吸去1×PBS。
5. 加入0.25%Trypsin-0.04%EDTA (T25培养瓶加入约1 mL，T75培养瓶加入约2~3 mL)。轻轻旋转，使Trysin-EDTA覆盖细胞表面，消化，显微镜下观察约70%~80%左右的细胞变圆后，用手轻拍培养器皿的壁使细胞脱壁。



注意：由于不同实验室所使用的Trysin效价不同，消化时间可能会略有不同，具体时间应以显微镜下观察到的情况为准。

6. 当看到明显的细胞脱落下来，立即加入预热的完全培养基（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）终止消化。
7. 用吸管吸取液体，反复吹打培养器皿底壁，使细胞彻底脱离器皿底壁。吹打时动作不宜太剧烈，尽量避免产生气泡。
8. 将细胞悬液转移到15 mL的离心管中。用1×PBS清洗底壁，收集洗液至离心管中。
9. 250 ×g，离心5 min。
10. 小心弃去上清液，加入2 mL完全培养基重悬细胞。吹打时动作不宜太剧烈，尽量避免产生气泡。
11. 对细胞进行台盼蓝染色计数活细胞数量。
12. 按照 $(2.5\sim 4.0) \times 10^4$ 个活细胞/cm² 的密度来接种细胞。
13. 加入适量的完全培养基，轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布。
14. 把细胞放入37°C，5%CO₂，饱和湿度的培养箱中培养。

提示

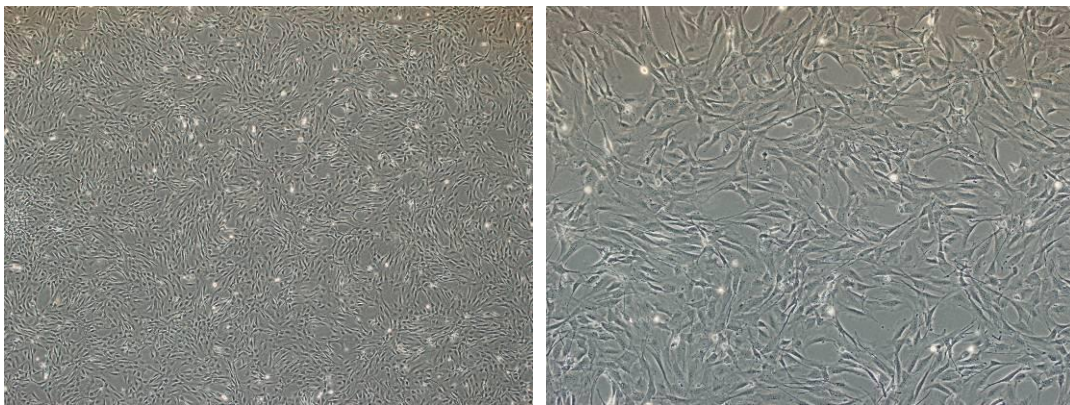
1. 换液时机

传代后发现有很多死细胞，应该予以换液。

当完全培养基 pH 值变低（培养基的颜色变黄），而此时细胞仍未能做传代处理时，应该予以换液。一般来说，Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞的换液间隔为 2~3 天。

2. 传代时机

当 Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞达到 80%~90%汇合时，就应该进行传代。不可让 Balb/c 小鼠骨髓间质干细胞完全融合或过度融合，否则会发生生长接触抑制。这将严重影响细胞的生长状态。



P7-40×

P7-100×

图2 Balb/c小鼠骨髓间质干细胞（P7）

3. 细胞汇合度提示（以C57 MSCs为例）

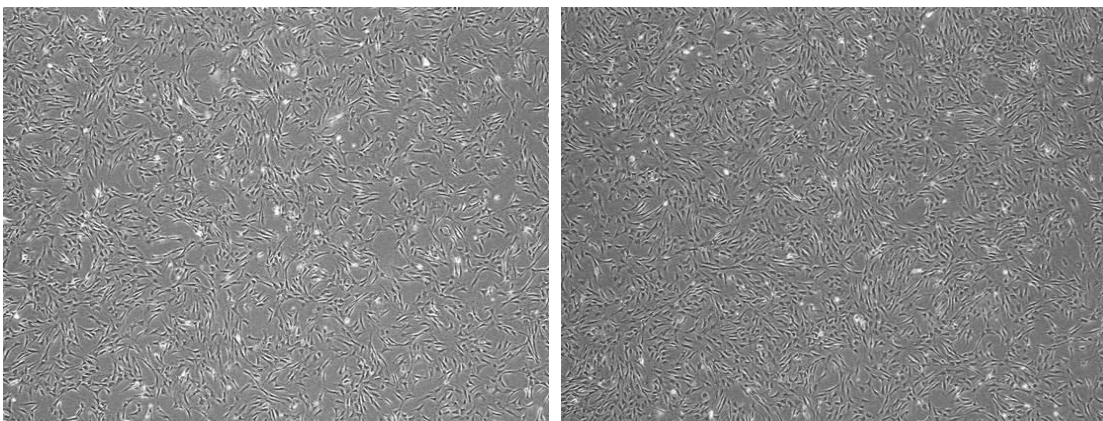


图3 细胞约70%~75%汇合

图4 细胞约85%~90%汇合

OriCellBalb/c 小鼠骨髓间质干细胞的冻存

所需材料

- OriCell 间质干细胞无蛋白非程序冻存液（货号：GUXMX-07021）

冻存



注意：冻存前24小时需要给细胞换上新鲜的完全培养基。

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可消化准备冻存。
2. 细胞的消化请参考OriCellBalb/c小鼠骨髓间质干细胞的传代操作中1~8步骤。
3. 对细胞进行计数。
4. 细胞悬液经250 ×g离心5 min。
5. 小心弃掉上清。
6. 用OriCell间质干细胞无蛋白非程序冻存液重悬细胞，并使细胞的密度为 1×10^6 个活细胞/mL（或希望达到的细胞密度）。



注意：OriCell间质干细胞无蛋白非程序冻存液在使用前需保持4°C。

7. 把细胞分装到冻存管（需提前做好标记或贴上标签）中，旋紧冻存管盖。
8. 将冻存管直接放进-80°C冰箱。24小时后将细胞转移到液氮进行长期保存。



注意：如使用程序冻存液，需将冻存管放入程序降温盒后方可放入-80°C冰箱。

参考文献

Alexandra Peister, Jason A. Mellad, and Benjamin L. Larson. (2004) Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential. *BLOOD* 1: 1662-1668.

Masoud Soleimani, and Samad Nadin. (2009) A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *NETURE* 4: 102-106.

Philippe Tropel, Daniele Noel, and Nadine Platet. (2004) Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow. *Experimental Cell Research* 295: 395-406.

Lindolfo da Silva Meirelles, Pedro Cesar Chagastelles, and Nance Beyer Nardi. (2006)

Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of Cell Science* 119: 2204-2213.

Cyagen Biosciences保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有**Cyagen Biosciences**的书面许可，本文件的任何部分，不得改编或转载用作其他商业用途。