



产品中文说明书

OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP

货号: **MUBMD-01101**

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.....	2
处理原则.....	2
OriCell C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 的复苏和培养.....	2
OriCell C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 的传代.....	4
OriCell C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 的冻存.....	5
参考文献.....	6

产品基本信息

产品名称	C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP
货号	MUBMD-01101
规格	1×10 ⁶ 个细胞/管
冻存代次	P9
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

脂肪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 C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP取自带有GFP荧光基因的C57BL/6小鼠的腹股沟脂肪，这些细胞能够表达ADSCs/GFP的特定的蛋白，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，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3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CD44、CD90、CD29阳性（>70%），CD34、CD11b、CD45阴性（<5%）。

产品应用领域

目前，C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP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的领域）。

OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP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. C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP一旦培养起来，请冻存一部分细胞作为备份。
 **注意：**C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP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12代。
4. 我们建议一般细胞接种密度是 $2.5-4.0 \times 10^4$ 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 C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 的复苏和培养

所需试剂

- OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基（货号：MUBMD-90011）

C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞的复苏和培养

1. 准备好37℃水浴。
2. 准备好C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基，温育到37℃。
3. 在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脂肪间质干细胞，立即放入-80℃冰箱（目的是让进入冻存管的液氮稍加挥发）。
5. 在-80℃放置2-3 min后，取出冻存细胞，将冻存管迅速放入37℃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移入装有9 mL完全培养基的15 mL离心管中。注意这一过程不要有气泡的产生。
 8. 为了减少细胞损失，往冻存管中加入1 mL完全培养基，稍微吹打，用吸管将这1 mL的细胞悬液吸入离心管中，再用吸管将离心管中的细胞轻轻吹打混匀。
 9. 将细胞悬液经250 g（对应于Eppendorf 5810R离心机是1134 rpm）离心5 min。
 10. 尽量去除上清液，向细胞沉淀物加入1-2 mL的完全培养基（已预热到37℃），轻轻吹打均匀。
 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. 在37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。
 13. 复苏后的第二天，给复苏的细胞换用新鲜的C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基（已预热到37℃）。
 14. 之后，每两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培养基量进行预热。

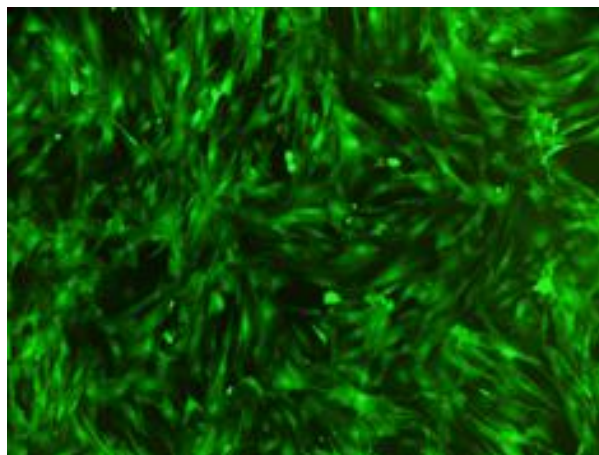


图 1 已贴壁的 C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP

OriCell C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 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 C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基（货号：MUBMD-90011）

传代

1. 将C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基、1×PBS、0.25%Trypsin-0.04%EDTA预热至37℃。
2. 吸去培养液。
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Trypsin-EDTA覆盖细胞表面，消化，显微镜下观察到约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Trypsin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。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
8. 将细胞悬液转移到15 mL的离心管中。
9. 250 g，离心5 min。
10. 小心弃去上清液。
11. 加入2 mL完全培养基重悬细胞。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
12. 对细胞进行台盼蓝染色计数活细胞数量。
13. 按照 $2.5-4.0 \times 10^4$ 个活细胞/cm²的密度来接种细胞。
14. 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。
15. 把细胞放入37℃，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（培养液的颜色变黄），而此时细胞仍未能做传代处理时，应该予以换液。一般来说，C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 的换液间隔为 2-3 天。

2. 传代时机

当 C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 达到 80%-90%汇合时，就应该进行传代。不可让 C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 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。

3. 细胞汇合度提示（以C57 MSCs为例）

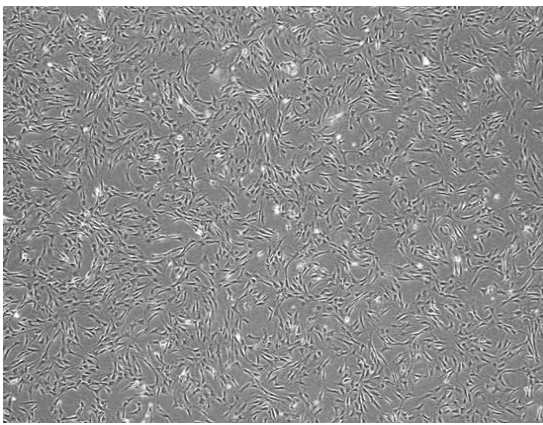


图2 细胞约70%-75%汇合

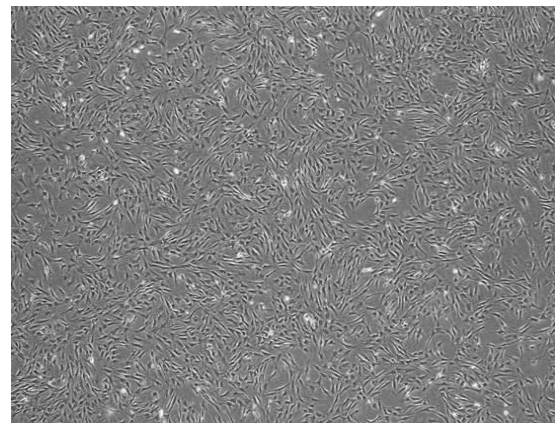


图3 细胞约85%-90%汇合

OriCell C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞/GFP 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OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞/GFP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℃。

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℃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℃冰箱。

参考文献

JM Gimble, and F Guilak. (2003) Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. ISCT 5: 362-369.

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。