

## 小鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)

一、基本信息	
细胞名称	小鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)
细胞品牌	江蓝纯生物
种属来源	小鼠
组织来源	骨髓
生长特性	贴壁生长
细胞形态	成纤维细胞样
细胞简介	<p>骨髓间充质干细胞是骨髓基质干细胞，对骨髓中的造血干细胞（HSC）不仅有机械支持作用，还能分泌多种生长因子（如 IL-6, IL-11, LIF, M-CSF 及 SCF 等）来支持造血。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多向分化潜能，能促进间充质组织的再生，如：骨、软骨、肌肉、韧带、肌腱、脂肪及基质等组织。在骨髓中，BMSCs 占骨髓有核细胞总数的 0.001%~0.1%，含量极低。而同时，由于组织工程需要大量的种子细胞，从啮齿类动物骨髓分离 BMSCs 的技术上的难度限制了许多实验的开展。体外分离培养纯度高、活力强、生物特性均一的 BMSCs 对组织工程及细胞的体内、体外实验显得至关重要。</p>
质量检测	CD44 免疫荧光染色为阳性，CD45 免疫荧光染色为阴性，纯度高于 90%，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等
细胞规格	5x10 <sup>5</sup> cells/T25 细胞培养瓶

培养基	小鼠骨髓间充质干细胞专用培养基
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
换液频率	每 2-3 天换液一次
消化液	0.25%胰蛋白酶
细胞货期	现货，1 周左右
运输方式	复苏发货（免运输费用） / 冻存发货（需加干冰运输费用）
供应范围	仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用
特别说明	具体操作步骤以随货产品说明书为主

## 二、细胞培养操作

收货处理	取出 T25 细胞培养瓶，用 75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入 37℃、5%CO <sub>2</sub> ，饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h，以稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1: 2 传代，1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</li> <li>2.加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.02% EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃培养箱中消化 1 -3min（视细胞消化情况而定），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</li> <li>3.将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</li> </ol>
复苏细胞	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm

	<p>条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 完全培养基，培养过夜）。第三天换液并检查细胞密度。</p>
细胞冻存	<p>待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例；</p> <p><b>a、</b> 收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p><b>b、</b> 根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p><b>c、</b> 将冻存管放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>
<h3>三、注意事项</h3>	
重要提醒	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 培养基于 <math>4^\circ\text{C}</math> 条件下可保存 3-6 个月。</li> <li>2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。</li> <li>3. 传代培养过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。</li> <li>4. 运输用的培养基（灌液培养基）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。</li> </ol>
到货须知	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 收到细胞后，首先观察并拍照记录细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，若有上述现象发生请及时和我们联系。</li> <li>2. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照（当天以及第 2,3 天请拍照），记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照、记录细胞生长状态。</li> <li>3. 由于运输的原因，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直</li> </ol>

至问题解决。

4.仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。

#### 四、售后服务

细胞予重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。