

HMSC-bm-Immortalized 人骨髓间充质干细胞-永生化

使用说明书

细胞名称 Cell name	HMSC-bm-Immortalized 人骨髓间充质干细胞-永生化
货号 NO.	ZQY003
描述 Description	
种属 Species	人
组织来源 Tissue	骨髓
形态 Morphology	
永生化方法 Method	转入 Sv40 和 hTERT 基因
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
培养基 Culture Medium	<p>配套专用培养基：500 ml 基础培养基；25 ml 血清替代物；肝素钠</p> <p>（备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。）</p> <p>推荐专用培养基货号：（ZQ-1320）</p> <p>温度：37℃</p> <p>气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</p> <p>2. 提前室温预热培养基。</p> <p>推荐使用重组人纤连蛋白（中乔新舟 货号：CSP044）包被培养瓶。</p> <p>以 T25 培养瓶为例：T-25 培养瓶+3mL DPBS+50L 纤连蛋白（1mg/mL）包被时间：过夜（12-16h），至少也需 37C 2h 以上。</p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>2.将冻存管放入 37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p>
传代	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，

<p>Subculturing</p>	<p>待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液 继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%) 。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次； 2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 3min ，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变 圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入终止液，终止消化并轻轻吹 打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液； 3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min ，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散； 4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 <p>注：1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察；</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. 推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液； 3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养； 4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内； 5. 该细胞所用完全培养基为无血清培养基，消化时不能当做终止液，需要用含 10%FBS 的完全培养基终止消化。
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法） <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>