

人骨髓间充质干细胞永生化-SV40

细胞详述:

间充质干细胞来源于发育早期的中胚层和外胚层,属于多能干细胞, MSCs 可以在体内或体外特定的诱导条件下,分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、肌腱、韧带、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞。

间充质干细胞的临床研究已经在许多国家开展,美国批准了 60 余项临床试验,我国也批准了多项临床试验,走入了间充质干细胞核心技术研发的舞台。对于间充质干细胞用于治疗十余种难治性疾病的治疗研究,除了用来促进恢复造血,与造血干细胞共移植提高白血病和难治性贫血等以外,还用于心脑血管疾病,肝硬化、骨和肌肉衰退性疾病、脑和脊髓神经损伤、老年痴呆及红斑狼疮和硬皮病等自身免疫性疾病的治疗研究。**该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因(转染后此细胞带有嘌呤霉素抗性)。**

细胞特性:

- 1) 细胞来源于手术取得的正常人骨髓血组织。
- 2) 细胞鉴定: CD44 免疫荧光染色为阳性。
- 3) 细胞生长方式: 成纤维样细胞,贴壁培养。
- 4) 含量: $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 5) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 6) 用途: 仅供科研使用。

运输和保存: 干冰运输及复苏好存活细胞: (1) 1mL 冻存管包装干冰运输,收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏,若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染,请立即与我们联系。(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货,收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理:

- 1) 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于室温放置约 1h, 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 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态,同时给刚收到的细胞拍照(10×, 20×)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: **细胞在室温放置约 1h, 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(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。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 推荐使用人骨髓间充质干细胞专用培养基(货号: QuiCell-Y527-M500)

上海葵赛生物科技有限公司

中国(上海)自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891

QuiCell 葵赛生物

2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。

3) 冻存液: 无血清细胞冻存液。

细胞处理:

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶(或皿)中 37°C 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) **细胞传代:** 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1mL), 置于 37°C 培养箱中**消化 2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间)**, 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入 **5ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。**

3. 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存: 下面 T25 瓶为例

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2. 1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用无血清细胞冻存液重悬细胞, 按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项:

1. 所有动物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, 所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意: 冻存管浸没在液氮中会泄漏, 并会慢慢充满液氮。解冻时, 液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子, 从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

上海葵赛生物科技有限公司

中国 (上海) 自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891