

仅供科研使用

版本号：A 版

## BMSC 细胞说明书

**【货号】** BC-PC-HU-001**【规格】** 5\*10<sup>5</sup> 个/T25 培养瓶（常温发货）**【保存】** 液氮保存，长期**【产品介绍】**

英文名称	BMSC
中文名称	人骨髓间充质干细胞
种属	人源
组织来源	骨髓
生长特性	贴壁生长
细胞形态	成纤维细胞样
换液频率	2~3 次/周
培养体系	低糖 DMEM+15%胎牛血清+青霉素链霉素+5ng/ml bFGF
培养条件	5% CO <sub>2</sub> ; 37℃
冻存条件	冻存液：50%基础培养基+40%FBS+10%DMSO；液氮中长期保存。
生物安全等级	1 级

**【细胞简介】**

人骨髓间充质干细胞(BMSC)分离自骨髓；骨髓是机体的造血组织，位于身体的许多骨骼内。骨髓存在于长骨(如肱骨、股骨)的骨髓腔和扁平骨(如髌骨)的疏松骨质间的网眼中，是一种海绵状的组织，能产生血细胞的骨髓略呈红色，称为红骨髓。出生时，红骨髓充满全身骨髓腔，随着年龄增大，脂肪细胞增多，相当部分红骨髓被黄骨髓取代，最后几乎只有扁平骨骨髓腔中有红骨髓。骨髓基质系统内存在的骨髓间充质干细胞是一种除造血干细胞以外的、具有高度自我更新能力和多向分化潜能的干细胞，可以向骨、软骨、肌组织、皮肤、脂

联系地址：南京市天元东路 2289 号 5 号楼 B 座 2F

联系电话：400-878-7820

肪、神经等多种组织分化，因此可以作为组织工程中的种子细胞。在骨髓中，BMSC 占骨髓有核细胞总数的 0.001%~0.1%，含量极低。骨髓间充质干细胞的体外培养条件要求较高，在培养过程中，受贴壁时间、种植密度、血清含量、培养温度和培养基 pH 值等条件的影响。

### 【收货后处理】

T25 培养瓶常温运输细胞

根据不同细胞生长特性，分为以下处理方式：

**贴壁细胞：**未超过 80%汇合度时，将培养瓶中的完全培养基收集至离心管中，留 5mL 完全培养基，放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱培养；超过 80%汇合度时，依据生长特性进行传代或冻存，具体操作见细胞传代和冻存步骤。首次传代，建议 1:2 传代（两个 T25）。

**悬浮细胞：**将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 3~5min，丢弃上清，加 1~2mL 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新鲜的完全培养基至 4~5mL/瓶，最后放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

**半贴壁、半悬浮细胞：**①对于半贴壁半悬浮生长的细胞，悬浮细胞用离心管收集细胞悬液，1000rpm 离心 3~5min，丢弃上清。贴壁的细胞未超过 80%汇合度时，用 5mL 完全培养基重悬收集到的细胞沉淀，然后加回原培养瓶中，放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱培养。f贴壁的细胞超过 80%汇合度时，根据贴壁细胞传代方法使用 0.25%胰酶消化收集；将悬浮细胞和贴壁细胞的沉淀用 1~2mL 完全培养基重悬收集到一起，混匀后，按 1:2 进行分瓶传代（2 个 T25）。

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。

### 【复苏培养】

从液氮中取出细胞冻存管，快速将其置入 37℃ 水浴中解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75%的酒精擦拭冻存管外壁；将冻存管中的细胞悬液移至含 1mL 完全培养基的 15mL 离心管中，1000 rpm 离心 3~5min；

弃上清，用 4~5mL 完全培养基重悬细胞沉淀，接种至 T25 培养瓶，于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养；

第二天，换用新鲜完全培养基继续培养，密切观察细胞状态。

### 【细胞传代】

细胞收集：①贴壁细胞：当细胞生长至培养瓶或皿底面的 80%以上汇合度时，弃去培养瓶或皿中的培养基，用 PBS 清洗细胞一次，然后添加适量的 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶或皿中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，加入与胰蛋白酶消化液等量（或高于消化液的量）的完全培养基终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15mL 离心管中。②悬浮细胞：直接收集培养瓶或皿中的细胞悬浮液转移至 15mL 离心管中。f半贴壁半悬浮细胞：先参考②收集悬浮细胞，再参考①收集贴壁细胞。

离心：收集好的细胞在 1000rpm 条件下离心 3~5min，离心好后弃除上清液。

接种：根据细胞量以适量的完全培养液重悬细胞沉淀，之后按适当比例接种到新培养瓶或皿中（细胞量及培养瓶或皿的规格可按实验要求确定）。

### 【细胞冻存】

细胞收集：①贴壁细胞：当细胞生长至培养瓶或皿底面的 80%以上汇合度时，弃去培养瓶或皿中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次，然后添加适量的 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶或皿中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，加入与胰蛋白酶消化液等量（或高于消化液的量）的完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15mL 离心管中。②悬浮细胞：直接收集培养瓶或皿中的细胞悬浮液转移至 15mL 离心管中。f半贴壁半悬浮细胞：先参考②收集悬浮细胞，再参考①收集贴壁细胞。

离心：收集好的细胞在 1000rpm 条件下离心 3~5min，离心好后弃除上清液。

冻存液重悬：可根据细胞量（需提前计数）向沉淀细胞加入一定量的配制好的细胞冻存液（50%基础培养基+40%胎牛血清+10%DMSO），混匀后以 1mL/管加入冻存管中。

冻存：将冻存管放入装有异丙醇的的冻存盒中进行梯度降温，然后放入-80℃冰箱降温，24h后将冻存管转入液氮罐中。(若实验室条件不足，可于冰箱上层4℃放置30min，随后转移至下层-20℃冷冻2h，接下来将其放于-80℃超低温冰箱中过夜，最终将冻存管放置于液氮中以长期保存。

### 【售后依据】

收到细胞后，请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的细胞名称一致以及培养瓶是否有破损或漏液等异常情况，若有异常请及时拍照联系我们。

显微镜观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照保存（4×，10×，20×各一张）前三天照片为重要售后依据，不提供照片默认收到状态良好。

### 【注意事项】

- 1、收到细胞后，及时查看产品介绍，确认细胞生长特性，并按照不同生长特性（贴壁、悬浮、半贴壁半悬浮）对细胞进行处理。
- 2、收到细胞后建议先不要打开培养瓶盖，75%酒精棉球擦拭T25细胞培养瓶外部。将其放入37℃培养箱中静置3~4h后，以稳定细胞状态。
- 3、有些贴壁细胞在快递运送过程中可能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，可先离心培养瓶中的完全培养基收集脱落细胞，然后加入完全培养基重悬并吹散，加回原培养瓶并补齐培养液，再放到培养箱中继续培养。
- 4、如收到密闭培养瓶，处理完后放入培养箱培养时要将培养瓶盖子拧松。
- 5、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柜内操作，并注意防护。所有废液及接触过此细胞的器皿需灭菌后方能丢弃。
- 6、若细胞在操作过程中发生污染，需对污染的细胞进行灭活方可丢弃。
- 7、本库的细胞系（株）仅用于科研工作，未经许可不得用于其他目的，使用者不得将本库细胞系（株）转让给第三者。

### 【培养建议】

1、骨髓间充质干细胞的体外培养条件要求较高，在培养过程中，受贴壁时间、种植密度、血清含量、培养温度和培养基 pH 值等条件的影响。

2、人 BMSC 体外培养周期有限；建议使用配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

3、该细胞可传代 10 代左右，6 代以内为最佳，建议收到细胞后尽快完成实验。

4、注意控制胰酶消化时间，长时间消化会影响细胞贴壁及生长状态。-

**注：收到货后务必三天内在 4×,10×,20×倍镜下观察拍照留存, 作为售后依据，否则默认收到货后状态良好。**