

赛业 OriCell®

细胞产品手册

OriCell® C57BL/6 小鼠 骨骼肌细胞

产品货号: MUBSM-02081



We help you discover life

产品介绍

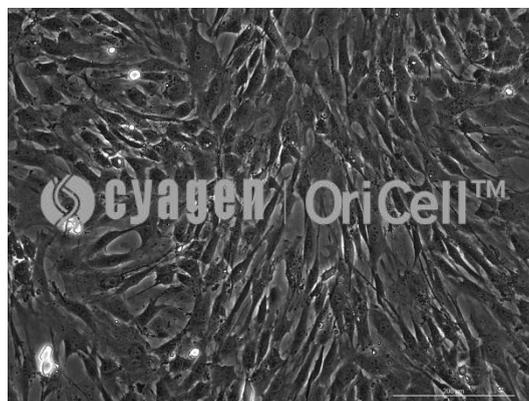
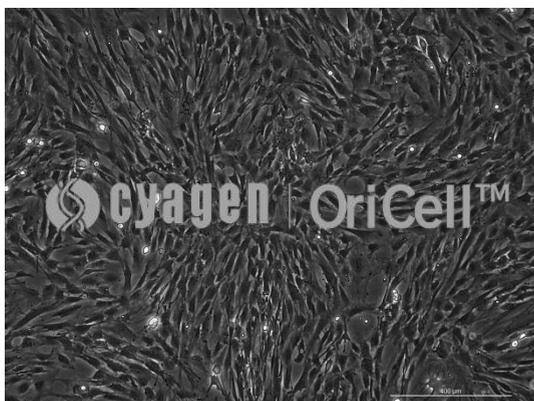
OriCell®小鼠骨骼肌细胞分离自四肢肌肉组织；骨骼肌又称横纹肌，肌肉中的一种，约占全身重量的40%。骨骼肌主要分布于四肢，每块肌肉都是具有一定形态、结构和功能的器官，有丰富的血管、淋巴分布，在躯体神经支配下收缩或舒张，进行随意运动。骨骼肌细胞呈纤维状，不分支，有明显横纹，核很多，且都位于细胞膜下方。骨骼肌细胞原代分离培养 3 天后，可见细胞贴壁伸展，细胞形态大小不一，呈梭形、不规则形、三角形或扇形，核卵圆形、居中。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞
货号	MUBSM-02081
规格	1×10 ⁶ 个/管 或 1×10 ⁶ 个/瓶
冻存代次	P2
保存条件	液氮 (-196°C)

OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>80%。
- 细胞鉴定：免疫荧光检测平滑肌肌动蛋白（ α -SMA）为阳性 > 90%。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞在体外增殖能力有限，体外可传 3 代。我们始终建议尽可能使用较低代次细胞进行科研工作。
5. 通常 C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞接种密度为 $(2.5\sim 4) \times 10^4$ 个活细胞/cm²。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系有很大关系。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞
- OriCell® 小鼠骨髓间充质干细胞完全培养基（货号：MUXMX-90011，以下简称完全培养基）

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80°C冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80°C，让管中液氮挥发。

操作步骤

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。
注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；
2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；
3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。
5. 用 75% 医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
注意：请以公式 $a = \omega^2 r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega = \pi n / 30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。
12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。
注意：若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。
13. 之后，每 2 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至 90%汇合，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- OriCell® 小鼠骨髓间充质干细胞完全培养基 (货号: MUXMX-90011)

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。

注意: 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。

8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按 $(2.5\sim 4) \times 10^4$ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 培养 C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞对于细胞密度有较高的要求, 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞传代比例为 1:3, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 待细胞汇合度至 95%以上, 即需传代或冻存。

注意: 正常情况下 OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞每代生长时间不超过 72 h, 中途不需要换液。频繁换液会破坏构建起的细胞微环境。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液 (货号: NCPF-10001)
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意: 在没有成熟的计数条件下, 我们建议将细胞按比例分装冻存即可, 长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时, 我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液, 可将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

注意: 细胞冻存期间, 特别是开始冻存的 4 h 内, 不可打开冰箱门, 这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意: 细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业 (广州) 生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业 (广州) 生物科技有限公司的书面许可, 本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。