

小鼠肋骨软骨细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-MK012

产品描述

软骨组织由软骨细胞、基质及纤维构成。软骨组织再生能力强，这些增生的幼稚细胞形似纤维母细胞，以后逐渐变为软骨母细胞，并形成软骨基质，细胞被埋在软骨陷窝内而变为静止的软骨细胞。根据软骨组织内所含纤维成分的不同，可将软骨分为透明软骨、弹性软骨和纤维软骨三种，其中以透明软骨的分布较广，结构也较典型。软骨细胞位于软骨陷窝内。软骨细胞在软骨组织中负责分泌 II 型胶原和其它类型的胶原以及非胶原的细胞外基质大分子，其增殖和分化与脊椎动物骨架的发育有着密切的关系，同时能分泌和响应一系列的生长因子，包括 IGF-1 和 IL1。体外培养的小鼠肋骨软骨细胞是研究软骨修复的有用模型，对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具有重要意义。试剂盒采用消化法，使用本试剂盒提取所得的小鼠软骨细胞纯度>90.0%，后续可直接进行 RT-qPCR、Western blot 等基本生物学实验。

适用范围

该试剂盒适用于不同型号新生小鼠（7 天内）肋骨软骨细胞的分离，规格为 5T，1T 可供 4-6 只新生小鼠使用。

运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表。所有组分开封后，有效期为 6-8 周，建议尽快使用。

配套培养基信息

表 1. 试剂盒组成信息

产品名称	产品规格	储存条件
小鼠肋骨软骨细胞消化液 I	50 mL	2-8°C 3 个月
小鼠肋骨软骨细胞消化液 II	50 mL	2-8°C 3 个月

小鼠肋骨组织处理缓冲液	250 mL	2-8°C 3 个月
小鼠肋骨软骨细胞专用培养基	250 mL	2-8°C 6 个月

分离步骤

一、小鼠肋骨软骨细胞分离及培养

实验前准备：小鼠肋骨软骨细胞消化液 I、II、小鼠肋骨组织处理缓冲液、小鼠肋骨软骨细胞专用培养基；实验需自备手术器械、40 μ m 细胞筛、培养皿、巴氏管若干、离心管若干。

1. 将新生鼠麻醉后处死，用酒精喷洒小鼠全身进行消毒，放在培养皿里面，喷洒培养皿放入生物安全柜。
2. 将新生鼠以**腹面朝上**姿势固定，用无菌剪刀将小鼠皮肤从肚脐位置剪到胸骨，然后沿着肋骨切开。
3. 打开横膈肌，并清除胸腔内的所有软组织（即肺和心脏）。
4. 用无菌剪刀取出肋骨，并用无菌手术刀小心去除肋骨上的软组织，将其放置在小鼠组织清洗液中清洗 1-2 次。
5. 将肋软骨片放入装有 10mL 小鼠软骨细胞消化液 I 的离心管中，在 37°C 培养箱消化 45 min。
6. 将软骨及消化液 I 转移至培养皿中，弃消化液 I。加入 10mL 小鼠软骨细胞消化液 II，用无菌剪刀将肋骨碎片化后同小鼠软骨细胞消化液 II 一起转移至离心管内，于 37°C 培养箱消化过夜（约 15 个小时）。
7. **过夜消化**完毕后，用巴氏管吹打混匀后用 40 μ m 细胞筛网过滤，过滤完毕后离心：400 xg，10 分钟。
8. 弃上清，用 5 mL 小鼠软骨细胞专用培养基重悬，再次离心：400 xg，10 分钟。
9. 用小鼠软骨细胞专用培养基重悬后计数，即可进行铺板培养。铺板密度见表 2。

表 2. 小鼠肋骨软骨细胞推荐铺板密度

培养器皿	细胞量 ($\times 10^4$ 个)
10cm 培养皿	300
6cm 培养皿	150
6 孔板	60
12 孔板	20

24 孔板	10
-------	----

注意事项

1. 组织分离操作建议在冰上操作，组织处理缓冲液建议预冷处理。
2. 分离时应避免过度消化、过度重悬等操作导致细胞损伤。
3. 细胞专用消化液、培养基中含有微生物生长所需的营养成分，请在超净工作台内打开，按照需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。