

## 原代破骨诱导培养基 (货号: PCM-I-005)

### 一. 产品描述

本公司自主研发的破骨诱导分化培养基, 体外诱导原代骨髓单核细胞 (BMMs) 向破骨方向分化。该培养基包括促进原代骨髓单核细胞向破骨方向分化的基础培养基, 优质胎牛血清, 细胞因子以及青链霉素。

### 二. 组成成分

培养基名称	规格	保存方式	有效期
破骨诱导分化培养基	100ml	避光, 4℃	1个月

### 三. 骨髓单核细胞的分离操作规程:

1. 麻醉动物: 向实验动物腹部注射麻醉剂和肝素 (防止血液凝固, 便于分离更加纯净的破骨前体细胞)。
2. 取腿骨: 在超净台中取出ICR小鼠一侧股骨和胫骨 (不需要两侧腿骨), 置于盛有PBS的10cm细胞培养皿中, 尽量剔除腿骨外侧肌肉。
3. 获取髓系细胞: 将腿骨放置于盛有适量 $\alpha$ -MEM基础培养基的新的培养皿中, 用无菌注射器, 吸取1ml基础培养基, 对准插入到骨髓腔中, 股骨和胫骨各轻柔冲洗2次, 收集吹打下来的细胞, 1200rpm, 离心3min, 取上清。
4. 接种细胞: 吸取4ml  $\alpha$ -MEM完全培养基重悬细胞, 接种于6cm皿中, 于37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱静置培养16-20h。
5. 收获单核巨噬细胞: 轻柔吸取6cm皿中过夜培养的细胞上悬液, 1200rpm, 离心3min, 弃上清。细胞沉淀即含有单核巨噬细胞, 可用于破骨诱导实验。

经多次实验验证，在收获髓系细胞后加入红细胞裂解液和不加裂解液纯化所得单核巨噬细胞在破骨诱导时无显著差异。为了尽量保持单核巨噬细胞的活性，不建议进行红细胞裂解操作。

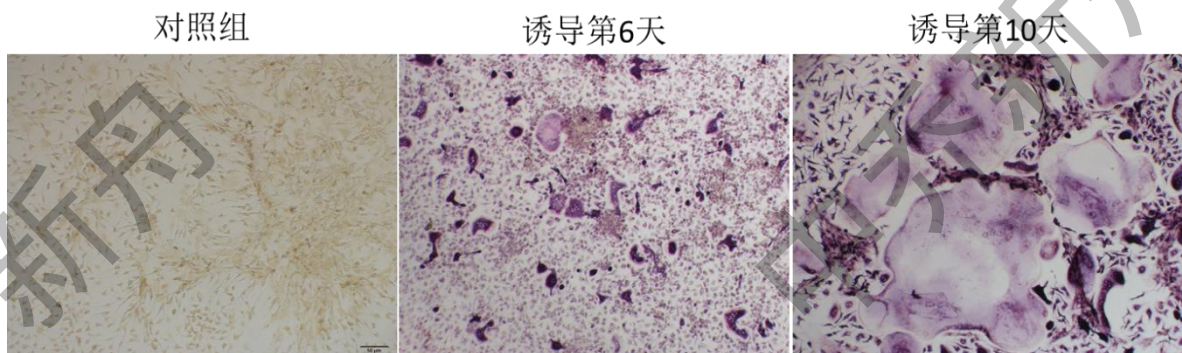
#### 四. 破骨诱导操作规程:

影响破骨诱导的因素很多，建议铺设 2-3 个复孔，综合评判。

1. 细胞接种：向收获的单核巨噬细胞中加入1-2ml破骨诱导分化培养基，轻轻吹打混匀。细胞计数，依照实验设计进行铺板。细胞密度是诱导成功的关键，我们建议铺板时细胞连接为70%-80%。建议24孔板铺板密度为10-20万/孔，接种体积为800-1000ul；48孔板铺板密度为3-4万/孔，接种体积为400-500ul。
2. 换液：细胞接种三天后首次换液（诱导培养基需提前预热），建议2/3换液或半量换液，枪头不要伸到孔板底部以避免损失细胞，沿壁轻柔加入试剂。后每2天换液一次，至破骨诱导第7-9天或出现较大破骨。

为避免破骨诱导不成功或者分化效率低，请尽量保证 BMMs 纯度和活力；不要将培养板长时间置于培养箱外观察或频繁开关培养箱；诱导培养基一定要预热；尽可能地避免晃动培养板；严格按照上述规程操作。

#### 五. 破骨诱导分化实例



本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭及其他用途。

警告:如果操作不当，培养基的某些成分可能会对健康造成危害。处理时应采取适当的预防措施，包括穿戴防护服和眼镜。