小牛骨切片

产品说明书

货号 TSX0012A/TSX0012B

名称 小牛骨切片

规格 10片/20片

产品介绍 Product Introduction

来源	小牛骨
直径	6mm
厚度	150um
孔板	适用于96孔板种植
灭菌	非灭菌

产品包装 Product packaging

产品名称	产品编号	规格
小牛骨切片	TS-X0012A	10片/盒
	TS-X0012B	20片/盒

骨片处理方法 Bone plate processing method

1. 骨片先用 75%酒精消毒半小时。将骨片置于无菌台晾干后收好。

2. 做实验前 24 小时，将骨片放在无血清培养基里，浸泡一晚，培养基要求 50ml，含有双抗，保证置换掉残余的酒精，杀灭可能的细菌。双抗可以是 2X 的。然后在实验当天，无菌方法把骨片放入 96 孔板。

破骨细胞培养操作方法 Osteoclast Culture Protocol

使用raw 细胞

1）先消化，按 96 孔板 每孔 5000-10000（具体的密度要自己摸）铺板。

2）第二天开始诱导，用 10%血清 α-men 50ng/ml 的 rankl 诱导，直至出破骨。Raw比较难。

使用原代细胞

1. 小鼠后肢股骨胫骨的骨髓冲出细胞打散，用 10%FBS 的 α-men（20ng/ml mcsf）养5 天，第三天的时候换液。5 天后铺板。

2. 按 96 孔板每孔 8000-10000 铺板，第二天开始诱导，用 10%血清α-men 20ng/ml 的mcsf 50ng/ml 的 rankl 诱导。原代多个 mcsf 并且要多养 5 天的原代。

破骨细胞培养问答 Q&A on osteoclast culture

Q: 我想用小鼠的骨髓来源的巨噬细胞做实验，但是巨噬细胞很难消化，这个问题怎么解决？

A: PBS 冲洗，加胰酶消化（8 分钟左右，观察后再决定是否需要更久）；加培养基中和，用移液枪反复吹，使细胞脱板，离心，培养基重悬，然后铺板加 rankl 诱导。

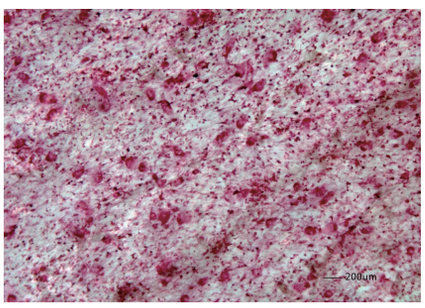
Q: 破骨细胞诱导分化的过程中，加入了 m-csf 和 rankel，需要养多久？中间需要换液吗，换液的频率是什么样的？

A：培养基 2 天一换，一般 4 天出细胞，不行再养 6-8 天。细胞密度要控制好，96孔板 8000－10000，六孔板 20 万，其他孔板按照这个密度来算就行了。

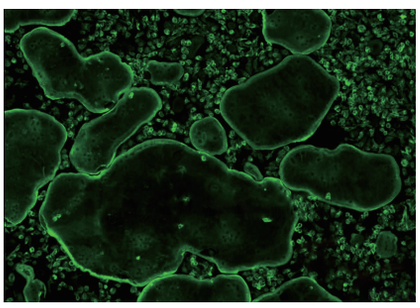
Q:骨吸收观察方法有哪些：

A：1）甲苯胺蓝；2）电镜评估；3）破骨细胞 f-actin ring 免疫荧光。

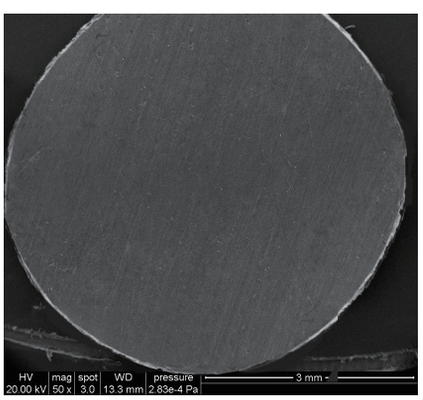
电镜的话不用甲苯胺蓝，直接细胞洗掉去拍就行了。荧光普通的方法染，用 actin抗体，细胞膜就染上了。



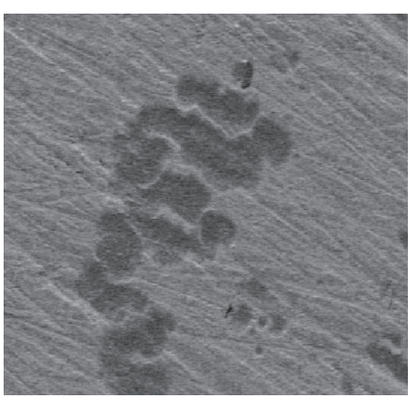
破骨细胞TRAP染色（骨片上）



破骨骨架（无骨片）



骨片扫描电镜图



骨片上的骨吸收窝

1、产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。