

细胞生物学：小鼠心肌细胞原代培养 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/475/2021_2022__E7_BB_86_E8_83_9E_E7_94_9F_E7_c67_475739.htm (一)、概述 整体动物心肌细胞的增殖能力在出生后仅能维持一个短时期，小鼠在出生3周后DNA合成所需的酶的活性及心肌细胞的增殖能力就明显降低至成年鼠水平。小鼠心肌细胞的原代培养，一般选用生后1-10d的乳鼠心脏，尤以出生1-4d的较好，此时心肌细胞已分化充分，适于作各种研究，而出生4d以后的乳鼠心脏中分离出来的心肌细胞较慢发育成为有自律性搏动的心肌细胞。

(二)、[试剂] 1、培养液：1：1混合的DMEM / F12 培养液，添加终浓度为10%小牛血清 (FCS)、100IU/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素。 2、消化液：胰酶 (效价为1：250) 0.08%、胶原酶II (活力为150U/mg) 0.05%，用pH 7.2-7.8的D-Hanks溶液配制，-20 保存。 3、D-Hanks溶液 (pH 7.2-7.8)：KCl 0.4 g，KH₂PO₄ 0.06 g，NaCl 8.00g，NaHCO₃ 0.35 g，Na₂HPO₄ · 7H₂O 0.09 g，酚红 0.01 g 1L

(三)、[实验步骤] 1、取生后1-4d的乳鼠，用75%乙醇消毒皮肤，再用大头针固定乳鼠的头及四肢，剪开胸部皮肤，用75%乙醇消毒皮下组织，更换镊子及剪刀，开胸取出心脏，将心脏放入盛有D-Hanks溶液的平皿 (或青霉素瓶) 中，剪去心房，剪开心室，用D-Hanks溶液冲洗三次，去除残留积血后，将心脏剪成1mm³大小的碎片，再将心脏碎片转移至离心管中，加5ml左右消化液，37 消化5 min，自然沉淀，弃上清，再加5ml左右消化液，37 消化20min (每隔2min振摇几下)，用吸管吹打1min后，将未消化完全的心脏碎片吸出至另一离

心管中，加入2ml冷的培养液终止消化，1000 rpm 5min，弃上清，沉淀中加入D-Hanks溶液2ml，1500 rpm 10min，弃上清，沉淀中加入培养液2ml，用吸管吹打制成细胞悬液。（为节约时间，以下步骤省略）上述未消化完全的心脏碎片补加5ml左右消化液后继续消化，同样操作，合并细胞悬液后放入培养瓶中置二氧化碳培养箱中（37℃ 5%CO₂）培养。100Test
下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问
www.100test.com