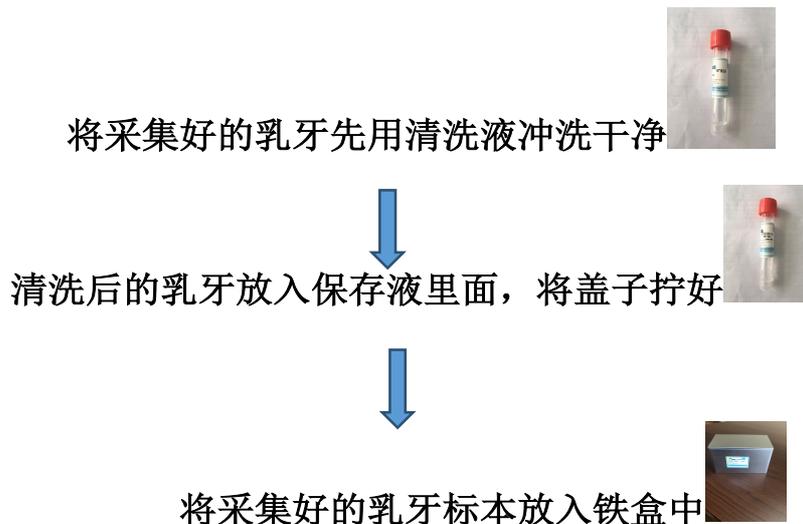


## 乳牙干细胞的收集、分离和储存

### 一、收集

1. 新鲜拔除的乳牙由口腔医生判断牙体和牙髓的状况，筛选无龋、无牙髓炎症和牙髓坏死等症状的乳牙；
2. 选取至少剩余 1/3 牙根的乳切牙或乳尖牙，不推荐选用乳磨牙作为样本；
3. 由于正畸治疗的需要提前拔除的健康乳磨牙也可纳入收集标准。
4. 取得乳牙后用生理盐水冲洗后至于保存液中，2-8℃保存（保存不应超过 48H）。

图例：



### 二、分离

1. 用含有双抗的 PBS（产品货号：PB2004Y）反复冲洗，劈开牙冠或牙科裂钻钻开牙冠，取出冠根部牙髓，PBS 反复冲洗；
2. 用眼科弯剪将牙髓组织剪成小块，加入 3 g/L 的 I 型胶原酶和 4 mg/L 的中性蛋白酶，37℃下消化 1h，期间多次振荡，最终未见成形的牙髓组织；

3. 离心弃上清液及洗净胶原酶后，沉淀用培养液充分混匀，反复吹打离散细胞团块，通过孔径 70  $\mu\text{m}$  的细胞筛网过滤，以获得单细胞悬浮液；

4. 培养：常规方法进行牙髓干细胞扩增。

### 三、 储存

1. 将样本干细胞分为 4 份分别冻存于液氮中，以确保干细胞不会因出现问题而全部遭弃；

2. 以每 1.5 mL 的细胞冻存液含有  $1.0 \sim 2.0 \times 10^6$  个细胞为宜，密度太高或太低均会导致细胞复苏率的下降；

3. 细胞冻存时应以  $1^\circ\text{C}/\text{min}$  的降温速度降温至  $-80^\circ\text{C}$ ，随后即可库存于液氮中。