

## استخراج سلولهای بنیادی مزانشیمی از ژله وار تون بند ناف انسان

بند ناف از بیمارستان در شرایط استریل تحویل گرفته می شود و در PBS حاوی یک درصد پنیسیلین - استرپومایسین قرار داده می شود. در آزمایشگاه بند ناف در PBS+1% Pen/Strep به خوبی شسته می شود تا خون اطراف بند ناف تمیز گردد. سپس بند ناف به قطعات حدود یک سانتیمتری تقسیم می شود و به صورت طولی دو قسمت می شود و با دقت رگهای خونی داخل بند ناف خارج می گردد. از طرف لایه داخلی در یک پتری دیش ۱۰ سانتی متری در محیط DMEM حاوی ده درصد FBS به مدت یک هفته قرار داده می شود و هر دو روز یک بار محیط آن تعویض می گردد. بعد از یک هفته تمامی قطعات بند ناف از پلیت خارج شده و اجازه داده می شود تا سلولهای چسبیده به پلیت تکثیر گردد. بعد از پر شدن پلیت سلولهای مزانشیمی بند ناف پاساژ داده شده و تکثیر می گردد. لازم به ذکر است بعد از پاساژ سوم روی سلولهای مزانشیمی تمایز به چربی و استخوان انجام می گردد.

### استخراج سلولهای بنیادی مزانشیمی از کلیه رت:

ابتدا کلیه ها از بدن رت خارج می گردد و سریعاً داخل محلول PBS + 1% Pen/strep قرار داده می شود سپس چربی ها و پرده رویی کلیه از آن جدا می گردد. کلیه به صورت طولی به دو قسمت برش داده می شود. قسمتی از کورتکس و مدولا برش داده شده و دور انداخته می شود و ناحیه وسطی برداشته شده و به قطعات کوچکی تقسیم می گردد. مقدار ۵۰۰  $\mu$ l کلاناز D به آن اضافه شده و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور قرار داده می شود. سپس این قطعات از فیلتر مش رد می شود.

بعد از سانتریفیوژ سلولها در DMEM حاوی ده درصد FBS کشت داده می شوند. سلولهای چسبیده به ته فلاسک تکثیر می شوند و بعد از پر شدن فلاسک پاساژ داده می شوند. بعد از پاساژ سوم روی آنها تمایز چربی و استخوان انجام می گردد.