服务热线:400-159-9089　　网址:www.chinxbt.com
公司地点:江苏省南京市江宁区科建路29号有志大厦A栋15楼1518

人肺动脉平滑肌细胞永生化

产品使用说明书

本产品只能用于科学研究,不得用于医学诊断

产品包装 Product packaging

货号	名称	规格
TS-CE-H0024J	人肺动脉平滑肌细胞永生化	1x10^6

细胞介绍 Introduction to Cells

肺动脉起于右心室,在主动脉之前向左上后方斜行,在主动脉弓下方分为左、右肺动脉,经肺门入肺。由于肺动脉连接着输送静脉血的右心室,所以,肺动脉虽然是动脉,但是它却输送静脉血。血管平滑肌细胞互相连接,形成管状结构;在功能上可以通产生连续收缩,使器官对抗所加负荷而保持原有的形状。该细胞所表达的钙通道表面表达的ICAM1和VCAM-1,参与血管壁炎症反应。体外培养的肺大动脉平滑肌细胞呈梭形、星形或不规则形。

细胞特性 Cell characteristics

1) 来源:人,正常肺动脉组织

2) 形态:长梭状细胞样 贴壁生长

3) 含量:>1x10^6 细胞数

4) 规格:T25瓶或者1mL冻存管包装

用途:仅供科研使用。

运输和保存 Transportation and storage

干冰运输及复苏好存活细胞

(1) 1mL冻存管包装干冰运输,收到后-80度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏,若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染,请立即与我们联系。

(2) T25瓶复苏的存活细胞常温发货,收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

1) 收到细胞后,75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-3h,若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染,请拍照后及时联系我们。

2) 请在4或5X显微镜下确认细胞状态,同时给刚收到的细胞拍照(10×,20×)各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存,作为售后时收到时细胞状态的依据。

3) 贴壁细胞:细胞在37°C培养箱中放置2-3h,显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况,有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下,可去除培养瓶中灌液培养基(若有未贴壁的细胞需要离心回收,重悬打入到原培养瓶中),加入新配制的完全培养基6-8mL,放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上,可以对细胞进行传代处理。传代过程中,若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

4) 备注:运输用的培养基(灌液培养基)不能再用来培养细胞,请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。 收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1:2传代 。

培养基及培养冻存条件准备 Preparation of culture medium and cryopreservation conditions

1) 基础培养基500ml;生长添加剂5ml;胎牛血清50ML;双抗5ml

2) 培养条件: 空气,95%;二氧化碳,5%。温度:37摄氏度,培养箱湿度为70%-80%。

3) 冻存液:90%FBS, DMSO 10%,现用现配。

细胞处理 Cell processing

1、冻存细胞的复苏：

将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻，加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基的培养瓶（或皿）中37°C培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2、细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

①弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

②加入0.25%（w / v）胰蛋白酶-0.53 mM EDTA于培养瓶中（T25瓶1-2mL，T75瓶2-3mL），置于37°C培养箱中消化1-2分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加入3-4ml含10%FBS的培养基来终止消化。

③轻轻打匀后吸出，在1000RPM条件下离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按1:2~1:5的比例进行。

3、细胞冻存：收到细胞后建议在培养前3代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

下面T25瓶为例；

①细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1×10^6~1×10^7个活细胞/ml.

②1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml冻存液含1×10^6~1×10^7个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

③将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

操作注意事项 Precautions

1. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

收货注意事项 Precautions

1.收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

2.收到细胞先不开瓶盖，瓶身擦拭酒精后放在培养箱静置2-4小时（视细胞密度而定）稳定细胞状态。接着在倒置显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照（建议收细胞时就整体外观拍一张照片，观察培养基的颜色和是否有漏液情况，随后在显微镜下拍下细胞状态，100*，200*各一张），观察记录细胞在运输过程中是否有污染情况。作为我方进行销售依据。

3.由于细胞状态受环境、操作和运输等多方面因素影响，故本公司只保证客户收到细胞后一周内的细胞状态，故客户需要售后时需出示收到细胞的时间证明及客户提供收货时间和发现问题后客服人员沟通的时间证明，期间间隔时间不能大于7天。

4.所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。