

大鼠结肠黏膜上皮细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-RAT-00046
规格 specifications	5 x 10 ⁵ cells/vial
描述 Description	大鼠结肠黏膜上皮细胞分离自结肠组织；结肠在右膈窝内续于盲肠，在第3骶椎平面连接直肠。结肠分升结肠、横结肠、降结肠和乙状结肠4部，大部分固定于腹后壁，结肠的排列酷似英文字母“M”，将小肠包围在内。分离的细胞在培养12-18小时开始贴壁，呈岛状方式生长，18-24小时开始大量贴壁并开始生长，24小时后细胞逐步汇合，细胞平展呈铺路鹅卵石状镶嵌排列。结肠黏膜上皮细胞主要功能：结肠黏膜上皮细胞分泌大肠液，润滑肠管及粪便和促使粪便成型并易于粪便向直肠运动。
分离方法及质量控制 methods and quality control	大鼠结肠黏膜上皮细胞采用混合酶制备而来，细胞总量约为5×10 ⁵ 个/瓶；细胞经CK19免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	细胞专用培养基组分： 500ml 基础培养基；5ml 细胞生长因子；5ml 青霉素/链霉素溶液 (备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。) 推荐专用培养基货号： ZQ-1328 0.05%消化液货号： CSP048 无血清细胞冻存液： CSP077 温度： 37°C 气相： 95%空气，5%二氧化碳
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入37°C的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基。 1.在无菌区准备好15ml离心管和T-25培养瓶并分别加入5ml完全培养基； 2.将冻存管放入37°C水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒75%乙醇，移至无菌区； 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的15ml离心管中，1000rpm离心5min； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的T25培养瓶（建议加液量：5~7ml）； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入CO ₂ 培养箱中培养。
细胞传代 Subculturing	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行1-2小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况： (一)细胞未长至85%时，用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留6-8ml培养液继续培养。 (二)细胞已长满(达85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下： 1.弃去培养液，用PBS洗涤1-2次；

	<p>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液,37°C消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异),显微镜下观察细胞消化情况,若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落,则迅速拿回操作台,加入至少双倍的完全培养液,终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次,使其变成单细胞悬液;</p> <p>3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min,弃上清,轻弹管底,将细胞弹散;</p> <p>4.加入新鲜培养基重悬细胞,进行传代;</p> <p>5.如果没有特别说明,建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</p> <p>注: 1.观察细胞密度最好用(4X物镜)低倍镜观察,以便正确的判断细胞密度;观察细胞形态请用(10X或20X)高倍镜观察;</p> <p>2. 推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液(推荐货号:CSP048);</p> <p>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用,请换新鲜培养液培养;</p> <p>4.有些细胞贴壁不牢,如发现贴壁细胞有脱落,可离心重悬后接种到新瓶内。</p>
<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<p>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</p> <p>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</p> <p>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中,1000rpm,5分钟离心收集培养细胞沉淀,彻底弃去离心管中的上清液。</p> <p>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中,使细胞浓度约为 $5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ /ml。轻柔地混匀细胞,制成细胞混合液。</p> <p>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中,建议每管 1ml 或 1.5ml。</p> <p>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入-80°C超低温冰箱中,可长期冷冻保存。</p> <p>7. 如果想液氮中长期保存,需先放入-80°C冰箱至少一天时间,方可移至液氮罐中保存。</p> <p>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液(货号:CSP077)推荐。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件:液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研,不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p>所有肿瘤和病毒转染的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,并注意防护</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂,漏液等,如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2.贴壁细胞:培养瓶不开封,显微镜下检查细胞状态,瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2小时后观察,如细胞大部分又贴回瓶底,表明细胞活力正常,剩余少量漂浮的细胞可以去掉,留 8-10ml 培养液培养观察,细胞生长至汇合度到达 85%左右,进行消化传代;如细胞仍不贴壁,将细胞离心收集转到新培养瓶,原培养瓶加部分培养液继续培养,注意观察。如细胞仍不能贴壁,请用台盼蓝染色鉴定细胞活力,并请及时拍照(多倍数多视野),包括染色照片,并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</p> <p>3.悬浮细胞:培养瓶不开封,显微镜下检查细胞状态,瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2小时后观察,将整瓶细胞及培养液分批离心(1000rpm,5min),加入适量培养基,根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</p> <p>4.半悬细胞:培养瓶不开封,显微镜下检查细胞状态,瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2小时后观察,将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心(1000rpm,5min),重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大,可将贴壁细胞消化下来,与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件,防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系,我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
<p>备注 additional information</p>	<p>由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同,以上方法仅供各实验室参考。</p> <p>原代细胞体外培养周期非常有限,请尽快及时安排实验。</p> <p>建议中乔新舟配套的专用细胞培养基及正确的操作方法来培养,以此保证该细胞的最佳培养状态。</p>