

## 大鼠血管外膜成纤维细胞说明书

|  |   |
|--|---|
| 货号<br>Cat No.                            | PRI-RAT-00026   |
| 规格<br>specifications                     | 5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial  |
| 描述<br>Description                        | 大鼠血管外膜成纤维细胞分离自血管外膜组织；血管外膜是由疏松结缔组织组成，其中含螺旋状或纵向分布的弹性纤维和胶原纤维。血管壁的结缔组织细胞以成纤维细胞为主，当血管受损伤时，成纤维细胞具有修复外膜的能力。有的动脉中膜和外膜的交界处，有密集的弹性纤维组成的外弹性膜。成纤维细胞是疏松结缔组织的主要细胞成分，由胚胎时期的间充质细胞分化而来。  |
| 分离方法及质量控制<br>methods and quality control | 大鼠血管外膜成纤维细胞采用胰蛋白酶-胶原酶混合消化法结合差速贴壁法制备而来，细胞总量约为5×10 <sup>5</sup> cells；细胞经 Vimentin 免疫荧光鉴定，细胞纯度可达 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<br>Culture Medium and reagents | <b>细胞专用培养基组分：</b> 500ml 基础培养基；胎牛血清；细胞生长因子；青霉素/链霉素溶液。<br>(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。)<br><b>推荐专用培养基 大鼠血管外膜成纤维细胞完全培养基 货号：PCM-R-26</b><br><b>0.05%消化液货号：CSP048</b><br><b>无血清细胞冻存液：CSP077</b><br><b>温度：37℃</b><br><b>气相：95%空气，5%二氧化碳</b>   |
| 培养特性<br>Culture Properties               | 贴壁  |
| 细胞复苏<br>Cell Thawing                     | <b>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</b><br><b>2.提前室温预热培养基。</b><br>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；<br>2.将冻存管放入 37℃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；<br>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；<br>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）；<br>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。<br>6.将培养瓶放入 CO <sub>2</sub> 培养箱中培养。 |
| 细胞传代<br>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。<br>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：<br>(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。  |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次;</li> <li>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;</li> <li>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;</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代;</li> <li>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。</li> </ol> <p><b>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;</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. <b>推荐使用 0.05% 胰酶/EDTA 消化液 (推荐货号: CSP048) ;</b></li> <li>3. <b>瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</b></li> <li>4. <b>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。</b></li> </ol>   |
| <p>细胞冻存<br/>Cell cryopreservation</p>        | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中, 使细胞浓度约为 <math>5 \times 10^5 - 1 \times 10^7</math> /ml。轻柔地混匀细胞, 制成细胞混合液。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液 (货号: CSP077) 推荐。</li> </ol>  |
| <p>保存<br/>Storage</p>                        | <p>保存条件: 液氮长期存储</p>   |
| <p>供应限制<br/>Product Use</p>                  | <p>仅限科研, 不可用于临床</p>   |
| <p>安全性<br/>Safety</p>                        | <p><b>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</b></p>  |
| <p>常见问题及解决方案<br/>Questions and solutions</p> | <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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)</li> <li>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)</li> <li>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)</li> </ol> <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<br/>additional information</p>         | <p><b>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。</b></p> <p><b>原代细胞体外培养周期非常有限, 请尽快及时安排实验。</b></p> <p><b>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, 以此保证该细胞的佳培养状态。</b></p>   |