

人主动脉平滑肌细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPH073
组织来源	人主动脉组织
细胞形态	成纤维细胞样, 贴壁生长。
规格	5x10 ⁵ 细胞数量, T25 细胞培养瓶。
培养基	含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等。
培养条件	气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。
消化液	0.25%胰蛋白酶。
传代特性	可传 5 代左右, 3 代以内最佳。
传代比例	1:2
换液频率	每 2-3 天换液一次。

二、细胞描述

人主动脉平滑肌细胞分离自主动脉组织; 主动脉是体循环的动脉主干。其运行路径为: 升主动脉起于左心室, 至右侧第 2 胸肋关节高度移行为主动脉弓, 弓行向左后至第 4 胸椎体下缘移行为降主动脉; 在第 12 胸椎体高度穿膈的主动脉裂孔移行为腹主动脉, 以上为胸主动脉, 至第 4 腰椎体下缘分为左、右髂总动脉; 髂总动脉在骶髂关节高度分为髂内、外动脉。主动脉平滑肌细胞原代分离培养 3 天后, 可见细胞贴壁伸展, 细胞形态大小不一, 呈梭形、不规则形、三角形或扇形, 核卵圆形、居中; 2 周后细胞汇合, 多数细胞伸展呈长梭形, 胞浆丰富, 有分枝状突起, 细胞平行排列成单层或部分区域多层重叠生长, 高低起伏; 细胞密度低时, 常交织成网状; 密度高时, 则排列为旋涡状或栅栏状。传代后细胞生长较快, 4-6 天即可汇合, 并保持上述形态学特征和生长特点。主动脉平滑肌细胞在心血管疾病发生、发展中具有重要作用, 以主动脉平滑肌细胞为实验研究对象, 探讨心血管疾病相关发病机制是目前研究的热点; 体外培养的主动脉平滑肌细胞对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具有重要意义。

三、提取方法简介

人主动脉平滑肌细胞采用胰蛋白酶-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 × 10⁵ cells/瓶。

四、质量检测

人主动脉平滑肌细胞经 α -SMA 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。

五、细胞收到后处理方式

人主动脉平滑肌细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态呈上皮细胞样, 细胞可传 5 代左右, 3 代以内效果最佳; 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

1、收到细胞后, 请按照以下方法进行操作。

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、请在显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (物镜 4×, 10×) 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。

六、细胞传代

- 1、在生物安全柜内, 打开培养瓶瓶口, 收集瓶内的培养基。
- 2、向培养瓶内加入 3mL 无菌的 1×PBS, 水平放置培养瓶, 使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积, 吸除 PBS。
- 3、向瓶内加入 1mL 0.25%胰蛋白酶 (含 EDTA), 浸润底面后放入 37°C CO₂ 培养箱中孵育 1~2min。
- 4、将培养瓶倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起, 若全部消化下来则直接向培养瓶内加入 2mL 完全培养基, 将悬液吸入 15mL 离心管。

注: 如还有部分细胞未消化下来, 可采用分步消化:

- 1) 准备一个无菌的 15mL 离心管, 加入 2mL 完全培养基。
- 2) 将消化下来的细胞吸入上述离心管内中, 向之前消化的培养瓶中加入 1mL 0.25%胰蛋白酶继续消化 2min 左右, 轻拍培养瓶, 待 95%以上的细胞脱落后加入 2mL 完全培养基, 将细胞悬液移入到上述 15mL 离心管。
- 5、1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 用 2mL 完全培养基重悬细胞。
- 6、取 2 个 T25 细胞培养瓶, 各加入 4mL 完全培养基, 每瓶分别加入上述 1mL 重悬细胞液。
- 7、水平放置培养瓶, 震荡混匀后, 37°C 5% CO₂ 培养箱中静置培养。

七、细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性, 贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿(如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等)时, 需要对实验器皿进行包被, 以增强细胞贴壁性, 避免细胞因没贴好影响实验;包被条件常选用鼠尾胶原 I(2-5μg/cm²), 多聚赖氨酸 PLL(0.1mg/ml), 明胶(0.1%), 依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

八、注意事项

- 1、完全培养基 4°C 调价下可稳定储存 3 个月。
- 2、消化过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁以及生长状态。
- 3、建议收到细胞后, 前 3 天内每个倍数各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 以便必要时与技术人员沟通。
- 4、由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时与我们联系, 详细告知细胞的具体情况, 以便我们技术人员跟进。