

## 人原代支气管成纤维细胞

Cat No.:JY-T241

### Description

种属	人
组织来源	支气管组织
传代比例	1;2传代
完全培养基配置	基础培养基500ml; 生长添加剂5ml; 胎牛血清50ml; 双抗5ml
简介	<p>人支气管成纤维细胞分离自支气管组织; 支气管 (Bronchi), 是指由气管分出的各级分枝, 由气管分出的一级支气管, 即左、右主支气管。左主支气管与右主支气管相比较, 前者较细长, 走向倾斜; 后者较粗短, 走向较前者略直, 所以经气管堕入的异物多进入右主支气管。支气管和气管还有以区别就是, 气管是以“C”型的气管软骨为支架, 而支气管不是。成纤维细胞 (Fibroblast) 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。成纤维细胞较大, 轮廓清楚, 多为突起的纺锤形或星形的扁平状结构, 其细胞核呈规则的卵圆形, 核仁大而明显。成纤维细胞功能活动旺盛, 细胞质嗜弱碱性, 具明显的蛋白质合成和分泌活动, 在一定条件下, 它可以实现跟纤维细胞的互相转化; 成纤维细胞对不同程度的细胞变性、坏死和组织缺损的修复有着十分重要的作用。刚分离的支气管成纤维细胞呈圆形、折光性良好, 悬浮于培养基中。30 min细胞贴壁, 其中部分开始伸出伪足, 表现为小的突起; 6 h后细胞基本贴壁完全, 伸展成梭形, 胞核清晰, 分布较均匀, 散在生长, 不聚集成团; 细胞生长迅速, 5-7天即呈融合状态, 细胞排列紧密, 有的交叉重叠生长, 平坦、胞体较大, 细胞质透明, 细胞核较大, 呈椭圆形, 颜色淡。细胞融合, 并彼此连接成网状; 细胞呈突起的纺锤形或星形的扁平分布。支气管成纤维细胞在生理条件下的主要功能包括: 构造和维持组织的正常形态, 合成和释放细胞外基质以及组织损伤后及时大量聚集修复损伤组织。</p>
形态	成纤维细胞样
生长特征	贴壁生长
细胞检测	平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 免疫荧光染色为阳性免疫荧光鉴定, 细胞纯度可达90%以上, 不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
倍增时间	每周 2 至 3 次
换液频率	2-3天换液一次
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37摄氏度, 培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%, 或使用非程序冻存液: 官网货号JY-H040
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

### 细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止2-3小时稳定 细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

### 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℃培养箱放置约2-4h，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) 静置完成后，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) 悬浮细胞：T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。
- 4) 贴壁细胞：细胞在37℃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。
- 5) 半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25瓶置于37℃培养箱中约2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在60%以下，客户需收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。
- 6) 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。

## 细胞处理：

1. 复苏细胞：从液氮灌中或-80℃冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃。

1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻；

2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。

3) 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完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），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。

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 1-2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 2-3min，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 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；

3) 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL完全培养基后吹匀；

4) 按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 6-8mL完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

（即 1 个 T25 传代接种至 2~3 个 T25 或者 2~3 个直径为 6cm 的培养皿）

3. 细胞冻存：

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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2) 1000rpm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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。