

人原代冠状动脉平滑肌细胞（一般可以传 6 代左右）

产品规格：>5×10⁵ 细胞数

包装规格：1ml 冻存细胞悬液或 T-25 培养瓶

细胞详述：

冠状动脉是供给心脏血液的动脉，起于主动脉根部，分左右两支，行于心脏表面。冠状动脉疾病发生和发展的一个主要因素是由于血管平滑肌细胞转变成为了具有繁殖能力的表型。近期的研究表明平滑肌细胞能表达钙离子通道，ICAM-1 和 VCAM-1。其中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达可能是造成血管壁炎症反应，并进一步造成血管疾病的原因。因此，对冠状动脉血管平滑肌细胞的体外培养和研究可用来发现和确定新的冠状血管疾病的靶向治疗方法。

细胞特性：

- 1) 组织来源于人的正常心脏组织。
- 2) 细胞鉴定：平滑肌肌动蛋白（ α -SMA）免疫荧光染色为阳性。
- 3) 经鉴定细胞纯度高于 90%。
- 4) 细胞生长方式：长梭形细胞，不规则细胞，贴壁培养。

运输和保存：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 瓶置于室温放置约 1h，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：**细胞在室温下放置 1h，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。**

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 人原代冠状动脉平滑肌细胞配套专用完全培养基（货号：QuiCell-Pri-8088-M500）
- 2) 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%。
- 3) 冻存液：无血清细胞冻存液。

上海葵赛生物科技有限公司

中国（上海）自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891

二. 细胞处理:

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 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℃ 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 1mL), 置于 37℃ 培养箱中 **消化 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 5ml 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: 下面 T25 瓶为例: **(原代细胞收到后 3 代内尽快安排实验!);**

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。用无血清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. 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。

注意事项:

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。