

## 人胃成纤维细胞永生化-SV40

### 细胞详述:

胃是人体的消化器官，位于膈下，胃壁由黏膜、黏膜下层、肌层和外膜四层组成，并有神经、血管和淋巴管的分布。其中成纤维细胞主要分布于粘膜层中的固有层、黏膜下层和外膜层。成纤维细胞是结缔组织中最常见的细胞，电镜下，成纤维细胞胞质内可见丰富的粗面内质网、游离核糖体和高尔基复合体，表明其具有合成和分泌蛋白质的功能。已知成纤维细胞的主要功能之一是合成胶原蛋白及其他细胞外基质，在组织器官纤维化过程中发挥重要作用。**该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因（转染后此细胞带有 puro 抗性）。**

### 细胞特性:

- 1) 细胞来源于手术切除的正常胃组织。
- 2) 细胞鉴定：纤维连接蛋白（Fibronectin）或波形蛋白（Vimentin）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：成纤维细胞样，贴壁培养。

**运输和保存：**复苏好存活细胞：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：**细胞在室温中放置 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) 人胃成纤维细胞专用培养体系（货号：QuiCell-Y1907-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。

### 二. 细胞处理:

- 1) **细胞传代：**如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

上海葵赛生物科技有限公司

# QuiCell 葵赛生物

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°C 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。

2) 细胞冻存：下面 T25 瓶为例：

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。

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