

大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞说明书

Cat NO: IMP-R022

基本信息

英文名称: Rat Abdominal Aortic Adventitial Fibroblasts Cells

种属来源: 大鼠

组织来源: 腹腔主动脉

细胞形态: 长梭形细胞, 不规则细胞

生长特性: 贴壁生长

生长培养基: 大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞专用培养基 (IMP-R022-1)

培养条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

包被条件: 0.1%明胶 (IMC-819-100 mL)

传代特性: 3-5 代

传代方法: 1: 2

换液频率: 2-3 次/周

消化液: 0.25%胰酶 (IMC-500)

细胞简介

腹腔主动脉是人体的大动脉, 直接延续于发自左心室的主动脉, 胸腔主动脉, 沿脊柱左侧下行, 主要负责腹腔脏器和腹壁的血液供应。主动脉是由内膜、中层弹力层和外膜构成, 三层紧密贴合在一起。其中, 外膜是专门的支持组织, 外膜成纤维是外膜的主要成分, 在血管炎症反应、血管重塑等方面发挥重要作用。

分离方法

实验室分离的大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞采用酶消化法制备而来, 细胞总量约为 $0.5-1.0 \times 10^6$ cells/瓶。

质量检测

大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞经波形蛋白(Vimentin)免疫荧光染色为阳性, 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。

培养操作

大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态呈长梭形细胞, 不规则细胞, 细胞可传 3-5 代左右; 3 代以内状态最佳, 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

复苏:

1. 将恒温水浴锅中的水预热到 37℃。
2. 准备一支 15ml 离心管, 加入 5ml 含 10%FBS 的完全培养基, 放入 37℃水浴锅中预热。
3. 戴上护目镜, 厚毛线手套后, 从液氮罐中取出要复苏的细胞, 尽快转入 37℃恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率。
4. 将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中, 混匀后, 1000rpm 离心 5min。
5. 准备一个 T-25 培养瓶, 写上细胞名称、日期, 再加入 4ml 完全培养基。
6. 离心完成后弃去上清, 用 1ml 完全培养基重悬细胞后, 转入 T-25 细胞培养中, 混匀后转入 CO₂培养箱中培养静置。

传代: 细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。**推荐 1: 2 传代培养。1 个 T25 传 2 个 T25 或者 2 个 6cm。**

1. 吸出原培养液。
2. 加入 2-3ml 不含钙、镁离子的 PBS(37℃预热)润洗细胞一次, 吸出 PBS 丢弃。
3. 加入 1ml 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶中, 并轻轻晃动培养瓶至消化液浸润所有细胞, 放入 37℃培养箱消化细胞 1-3min。(建议 1min 左右)
4. 倒置显微镜下观察, 待细胞明显变圆有间隙后(全程请不要拍打培养瓶), 再加入 3-5ml 含 10% 血清的培养基终止消化(稀释法终止消化, 则培养基用量不应低于 5ml)。
5. 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞, 200g, 3-5min 离心去除残留胰酶。
6. 去掉上清, 结合需求进行后续相关实验操作。

细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例:

1. 收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 200g 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 进行细胞计数。

2. 根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $1-1.5 \times 10^6/\text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。

3. 将冻存管放入 -80°C 冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到常温细胞后，首先观察细胞瓶是否完好，有无漏液现象，若有上述问题发生请及时和我们联系。

2. 显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，属正常现象。观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将细胞培养瓶置于 37°C 培养箱静置 2-4 h，以便稳定细胞状态。

3. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、生长特性、所用培养基、血清比例、所需细胞因子、传代比例等，**确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担（客户需咨询其培养条件是否与我们一致）。**

4. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）。

5. 稳定细胞状态后建议直接进行实验或消化传代，不需要进行换液后再传代（操作不当易导致细胞状态差）。

6. 大鼠腹腔主动脉外膜成纤维细胞体外培养周期有限，建议使用配套的专用培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的**最佳培养状态**。

7. 建议进行细胞培养后，前 3 天定期拍照，记录细胞状态，若观察到异常或对细胞有疑问，请及时与代理商或我们联系。对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可与我们的技术支持交流。

该细胞仅供科研使用。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，可用于稳定细胞状态。请按照说明书细胞培养条件来培养细胞。