

大鼠肝枯否细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-RAT-00183
规格 specifications	5 x 10 ⁵ cells/vial
描述 Description	大鼠肝枯否细胞分离自肝脏；肝枯否细胞（Kupffer cells KCs）是机体巨噬细胞中最大的群体，占总数的 80%，具有重要的免疫功能；KCs 主要功能是清除血流中具有生物活性的物质，维持体内环境稳定；KCs 能吞噬大颗粒物质细菌、肿瘤细胞），也能吞饮可溶性物质来自门静脉的细菌抗原、内毒素），体外培养大鼠肝枯否细胞，24h 显微镜下胞浆内见到吞噬的黑色碳素颗粒。
分离方法及质量控制 methods and quality control	本公司生产的大鼠肝枯否细胞采用酶消化法制备而来，细胞总量约为 5×10 ⁵ 个/瓶；细胞经 CD68 免疫荧光鉴定，细胞纯度可达 90% 以上，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	细胞专用培养基组分： 500ml 基础培养基；胎牛血清；细胞生长因子；青霉素/链霉素溶液 (备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。) 推荐专用培养基 大鼠肝枯否细胞完全培养基 货号：PCM-R-183 0.05%消化液货号：CSP048 无血清细胞冻存液：CSP077 温度：37°C 气相：95%空气，5%二氧化碳
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基。 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2.将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区； 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。 <u>大鼠肝枯否细胞不建议传代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。</u>

细胞消化	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>静置后, 显微镜下观察细胞状态, 拍照记录细胞的贴壁情况, 漂浮的细胞需离心收集后在离心管消化(脱落细胞处理方式), 贴壁细胞也需消化后与脱落的细胞合并一起后重新接种。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, 若培养瓶上无特殊标注, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次; 2. 加入 1.0ml 胰酶消化液, 37°C 消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异), 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍的完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成单细胞悬液; 3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散; 4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 接种于孔板中(提前多聚赖氨酸包被孔板); 5. 待细胞贴壁后可用于后续相关实验。 <p>注: 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</p> <p>2. 推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液 (推荐货号: CSP048) ;</p> <p>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</p> <p>4. 有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心重悬后接种到新瓶内。</p>
保存 Storage	保存条件: 液氮长期存储
供应限制 Product Use	仅限科研, 不可用于临床
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
常见问题及解决方案 Questions and solutions	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85%左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法) 3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法) 4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法) <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
备注 additional information	<p>由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同, 以上方法仅供各实验室参考。</p> <p>原代细胞体外培养周期非常有限, 请尽快及时安排实验。</p> <p>建议中乔新舟配套的专用细胞培养基及正确的操作方法来培养, 以此保证该细胞的佳培养状态。</p>