

## 人膀胱成纤维细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-H-00041
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	<p>人膀胱成纤维细胞分离自膀胱组织；膀胱是一个储尿器官，在哺乳类动物，它是由平滑肌组成的一个囊形结构，位于骨盆内，其后端开口与尿道相通。膀胱与尿道的交界处有括约肌，可以控制尿液的排出。膀胱壁由三层组织组成，由内向外为黏膜层、肌层和外膜。肌层由平滑肌纤维构成，称为逼尿肌，逼尿肌收缩，可使膀胱内压升高，压迫尿液由尿道排出。在膀胱与尿道交界处有较厚的环形肌，形成尿道内括约肌。在括约肌收缩能关闭尿道内口，防止尿液自膀胱漏出。膀胱壁分为三层：即浆膜层(蜂窝脂肪组织)、肌肉层(逼尿肌、膀胱三角区肌)和黏膜层(极薄的一层移行上皮组织)。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。刚分离的膀胱成纤维细胞呈圆形、折光性良好，悬浮于培养基中。30min 细胞贴壁，其中部分开始伸出伪足，表现为小的突起；6h 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。</p> <p>膀胱成纤维细胞分泌的生长因子是一种具有多功能的促有丝分裂原，研究已表明其参与恶性肿瘤的形成过程。近年来，碱性成纤维细胞生长因子在膀胱癌发病过程中的作用、与生物学行为之间的关系以及治疗上的应用已受到重视。</p>
分离方法及质量控制 methods and quality control	本公司生产的人膀胱成纤维细胞采用混合胶原酶消化制备而来，细胞总量约为 5×10 <sup>5</sup> cells，细胞经 Vimentin 免疫荧光鉴定，细胞纯度可达 85%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	<p><b>细胞专用培养基组分：</b>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。)</p> <p><b>推荐专用培养基货号：PCM-H-061</b></p> <p><b>0.05%消化液货号：CSP048</b></p> <p><b>无血清细胞冻存液：CSP077</b></p> <p><b>温度：37°C</b></p> <p><b>气相：95%空气，5%二氧化碳</b></p>
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>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。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p>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；</p> <p>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；</p> <p>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；</p>

	<p>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）；</p> <p>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。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
<p>细胞传代 Subculturing</p>	<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>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"> <li>1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>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；</li> <li>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；</li> <li>4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>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；</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液（推荐货号：<b>CSP048</b>）；</li> <li>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</li> <li>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。</li> </ol>
<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</li> <li>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中，1000rpm，5 分钟离心收集培养细胞沉淀，彻底弃去离心管中的上清液。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度约为 5×10<sup>5</sup>-1×10<sup>7</sup> /ml。轻柔地混匀细胞，制成细胞混合液。</li> <li>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中，建议每管 1ml 或 1.5ml。</li> <li>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入-80°C超低温冰箱中，可长期冷冻保存。</li> <li>7. 如果想液氮中长期保存，需先放入-80°C冰箱至少一天时间，方可移至液氮罐中保存。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液（货号：<b>CSP077</b>）推荐。</li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件：液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研，不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p><b>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</b></p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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）</li> <li>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）</li> </ol>

	<p>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> <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><b>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。</b></p> <p><b>原代细胞体外培养周期非常有限，请尽快及时安排实验。</b></p> <p><b>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，以此保证该细胞的最佳培养状态。</b></p>