

人子宫内膜异位基质细胞 (原代细胞永生化) ihESCs

一、细胞简介

货号	YFX-CPH089Y
背景描述	人子宫内膜异位基质细胞永生化分离自子宫内膜异位组织; 子宫内膜异位症是指具有生长功能的子宫内膜组织出现在子宫腔被覆黏膜以外的部位。子宫是孕育胎儿的器官, 位于盆腔中部, 膀胱与直肠之间, 其位置可随膀胱与直肠的充盈程度或体位而有变化。子宫的正常位置主要依靠子宫诸韧带、盆膈、尿生殖膈及会阴中心腱等结构维持, 这些结构受损或松弛时, 可以引起子宫脱垂。 该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。
组织来源	人子宫内膜异位组织。
细胞形态	成纤维细胞样, 贴壁生长。
规格	$>5 \times 10^5$ cells, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
培养基	人子宫内膜异位基质细胞专用培养基。
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C; 培养箱湿度为 70%-80%。
细胞检测	不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	1-2 天。
细胞冻存液	无血清冻存液。

二、细胞收到后处理方式

- 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h, 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。
- 请在 4 或 5×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。
- 悬浮细胞: T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h, 然后抽出瓶中的培养基和细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中 (加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。
- 备注: 运输用的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。**

三、细胞传代 (建议一传二)

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:

- 在生物安全柜内, 打开培养瓶瓶口, 吸弃瓶内的培养基。
- 向培养瓶内加入 3mL 无菌的 1×PBS, 水平放置培养瓶, 使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积, 吸弃 PBS。
- 向瓶内加入 1mL 0.25%胰蛋白酶 (含 EDTA), 浸润底面后放入 37°C CO₂ 培养箱中孵育 1~2min。
- 孵育完成后在倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起, 若全部消化下来则直接向培养瓶内

加入 2mL 完全培养基中, 将悬液吸入 15mL 离心管。

注: 如细胞不能一次性完全消化, 可采取如下方法:

A. 准备一个无菌的 15mL 离心管, 加入 2mL 完全培养基。

B. 将消化下来的细胞加入到上述离心管中。

C. 向之前消化的培养瓶中加入 1mL 胰酶继续消化 2min 左右, 轻拍培养瓶, 95%左右细胞脱落后加入 2mL 含 10%FBS 的完全培养基中和, 中和后的细胞悬液移入 A 中的离心管内。

四、细胞冻存

收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:

1、选择指数生长期的细胞, 吸去培养液, 加 PBS 清洗 1-2 遍。去 PBS, 加入 0.25% 胰酶 1.5mL 润洗 10 秒, 去胰酶。将培养瓶放 37 度培养箱, 靠残余胰酶继续消化细胞直至细胞变圆, 拍打瓶侧使细胞脱落。细胞消化下来后, 加 5mL 培养液全部吹打下来, 再 1000RPM 离心 3 分钟。

2、加入 1-1.5mL 成品冻存液, 分装至 2mL 冻存管里, 将冻存管放入充满异丙醇的程序降温盒中, 之后转入 -80℃ 度冰箱过夜, 第二天再转至液氮。

五、细胞复苏

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 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。

六、运输和保存

1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到细胞后请镜下观察细胞生长状态, 如铺瓶率超过 85% 请立即进行传代操作。

2、1mL 冻存细胞悬液装于 1.8mL 的冻存管中, 置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输; 收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养, 如无法立刻进行复苏操作, 冻存细胞可在 -80℃ 的条件下保存 1 个月。

七、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、从液氮中取出细胞冻存管时, 若冻存管内有液氮进入, 需拧松冻存管, 排出内部残留的液氮, 之后拧紧冻存管, 置于干冰上, 然后放入 37℃ 水浴中, 避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。