Kupffer 细胞

Kupffer Cells

（可贴壁，Cat# LV- Kup001/2/3/4）

(仅用于科学研究)

为确保实验人员安全及生物安全，请在接触本产品及其废弃物时佩戴防护口罩、乳胶手套以及防护眼罩（复苏时）等必要的防护用品，严格按照本说明书操作，实验结束后所产生的废弃物按照国家、省、市级相关法律法规，进行无害化处理，确保生物安全。

I 简介

肝 Kupffer 细胞（Kupffer cell）在肝脏的生理功能和病理机制的发生中扮演重要的角色，成为近年来肝脏研究的热点。本产品采用胶原酶灌注消化法分离自健康肝脏，保留了细胞在体内的生物活性；通过 Percoll 梯度离心除掉了其它肝脏细胞，再经过差速贴壁法，具有较高纯度（>70%）。经检测无细菌、真菌、放线菌等污染，细胞活力高（复苏活率>80%，新鲜铺板活率>95%）。公司可个性化定制原代细胞，满足不同客户的需求。

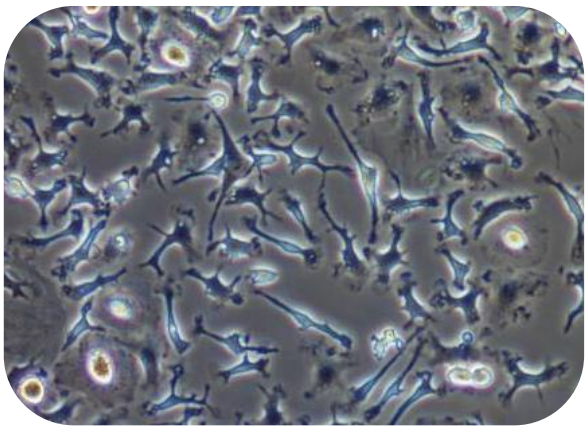
II 试剂与材料

- 肝 Kupffer 细胞（Cat# LV- Kup001/2/3/4）
- 肝 Kupffer 细胞培养基（Cat# LV-KuPM001）
- 培养板（TC-treated）
- 无菌 15ml 离心管
- 一次性移液管
- 37℃/5%CO_2 培养箱
- 移液枪
- 恒温水浴锅（37℃预热）
- 冷冻水平离心机（带水平转子，可离心 15ml 离心管）
- 生物安全柜
- 宽口移液枪头
- 75%酒精

重要提示：解冻时，冻存细胞转移必须使用液氮转移；在整个复苏实验过程中必须全程使用宽口枪头。

III 细胞的复苏与铺板

1. 肝 Kupffer 细胞培养基放入 37℃恒温水浴锅中充分预热。
2. 将冻存的肝 Kupffer 细胞从冷藏位置通过液氮迅速转移至 37℃恒温水浴锅中。将冻存管尽可能多的浸入 37℃水中，顺时针水平摇动，但必须确保冻存管



管盖保持在水面以上。

3. 解冻冻存管约 90~120s，至冻存管中只有少量碎冰漂浮即可。
4. 用 75%酒精消毒冻存管，并将其转移到生物安全柜。
5. 用宽口枪头将细胞重悬（轻轻吹打 2 次），并转移至含15ml预热培养基的 15ml 离心管中（注意：冻存管与枪头上残留细胞，可用 1ml 复苏培养基润洗冻存管与枪头）。
6. 将细胞逐滴加入预热培养基中，最后轻微上下颠倒 3 次混匀。
7. 600g，4℃离心 5min，去上清并用培养基重悬。
8. 沉淀的细胞用肝 Kupffer 细胞培养基重悬并定容至 4ml，用台盼蓝排除法测定细胞的活力和细胞总量。
9. 将细胞按 3×10^{4}cells/cm^2 接种至 TC 处理培养板中。摇匀，在 37℃/5%CO_2 培养箱中培养，24h 后换液。

IV 细胞培养与传代

1. 细胞融合度达到 80%时可进行传代。
2. 提前将培养基、PBS、胰酶放入 37℃水浴锅内预热，用 75%酒精擦拭后再放入超净台内。
3. 吸除旧培养液，加少量 PBS 润洗细胞，加入适量胰酶，使加入的胰酶能盖住细胞，37℃孵育，约 2~3min 后显微镜下观察。
4. 待贴壁细胞间间隙变大、细胞趋于圆形但还未漂起时弃去胰酶，加入新鲜培养基，晃动细胞板，终止胰酶作用，用吸管小心吹打贴壁的细胞，制成细胞悬液（控制吹打的力度，避免产生大量的气泡）。
5. 600g，室温离心 5min，去上清并用肝 Kupffer 细胞培养基重悬。
6. 将细胞悬液按 3×10^{4}cells/cm^2 接种到新的 TC 处理培养瓶/板内，置 37℃/5%CO_2 培养箱中培养，隔天观察贴壁生长情况。

V 关于售后

如您发现产品有任何质量问题，请您收集原始数据，并第一时间联系公司销售或者技术支持，公司安排人员保证售后。每个实验室条件不同，操作人员习惯不同，熟练程度不一样，实验失败存在客观因素。如未严格按

照说明书操作、超过售后时限，公司不做售后，请老师理解与支持。

售后有效期与提供的原始数据：

复苏问题：立刻报告异常；提供台盼蓝染色或者AO/PI 染色。

污染问题：复苏 96 小时以内；提供相差显微镜照片。

纯度问题：一个月内；提供免疫荧光或者流式结果。

VI 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）