

肝星形细胞

Hepatic Stellate Cells

(可贴壁, Cat# LV-HSC001/2/3/4)

(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

肝脏星形细胞(HSC)占非实质细胞的30%左右。HSC存在于Disse腔中,呈梭形或多边形,胞浆内有多数富含维生素A的脂滴,其细长的突起向外延伸环绕在血窦内皮细胞外面,是体内储存视黄醛衍生物的首要部位。在正常肝脏中,星状细胞处于静止状态,不表达 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA),增殖活性低,合成胶原能力低,其主要功能是贮存视黄醛类。

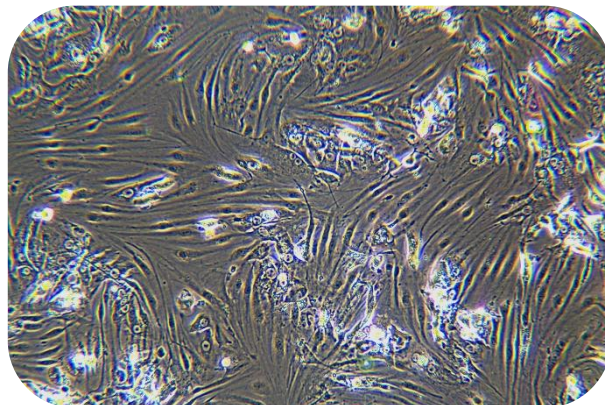
II 试剂与材料

- 肝星形细胞 (Cat# LV-HSC001/2/3/4)
- 复苏培养基 (Cat#LV-Rec001)
- 肝星形细胞培养基 (Cat# LV-HSCM001)
- 胶原包被板/皿/瓶 (Cat# LV-Coated)
- 无菌 15ml 离心管
- 一次性移液管
- 37°C/5%CO₂ 培养箱
- 移液枪
- 恒温水浴锅 (37°C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 (普通移液枪头剪去尖头,再灭菌使用)
- 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. 复苏培养基放入 37°C 水浴锅中充分预热,铺板培养基放入 37°C 恒温水浴锅中充分预热。
2. 将冻存的肝星形细胞从冷藏位置经液氮迅速转移至 37°C 恒温水浴锅中,尽可能多的浸入 37°C 水中,



顺时针水平摇动,但必须确保冻存管盖子保持在水面以上。

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 10ml 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 复苏培养基清洗冻存管与枪头)。
6. 将细胞悬液逐滴加入预热复苏培养基,每 1ml 细胞悬液加入 10ml 复苏培养基(注意:前 3ml 要缓慢逐滴加入并轻微摇晃,后面 7ml 可加快速度),最后轻微上下颠倒 1 次混匀。
7. 600g, 4°C 离心 5min,去上清并用培养基重悬。
8. 沉淀的细胞用肝星形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/cm² 接种至胶原包被培养板中,摇匀,置 37°C/ 5% CO₂ 培养箱中培养,24 小时后换液。

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°C 水浴锅内预热,用 75%酒精擦拭后再放入生物安全柜内。
3. 吸除旧培养液,加少量 PBS 润洗细胞,弃 PBS 后加适量胰酶,使加入的胰酶能盖住细胞,37°C 孵育,约 2~3min 后显微镜下观察。
4. 待贴壁细胞间隙变大、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,去上清并用培养基重悬。
6. 将细胞悬液按 3×10^4 cells/cm² 接种到新的胶原包被培养瓶/板内,置 37°C/ 5% CO₂ 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）