

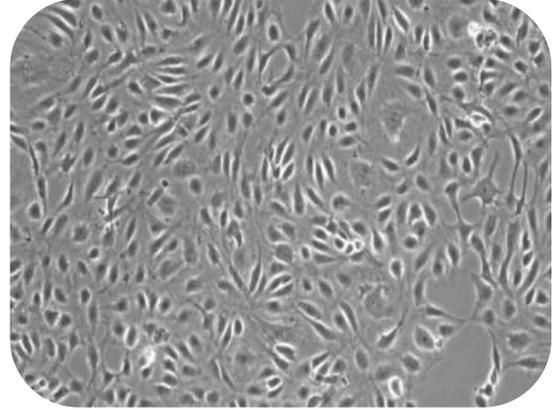
肝窦内皮细胞

Hepatic Sinusoidal Endothelial Cells

(可贴壁, Cat# LV-LESC001/2/3/4)

(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

肝窦内皮细胞(Hepatic/liver sinusoidal endothelial cells, HSEC/LSEC)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,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,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

- 肝窦内皮细胞(Cat# LV-LESC001/2/3/4)
- 肝窦内皮细胞培养基(Cat# LV-LSEM001)
- 胶原包被培养板/皿/瓶(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. 肝窦内皮细胞培养基放入 37°C 恒温水浴锅中充分预热。
2. 将冻存的肝窦内皮细胞从冷藏位置经液氮迅速转移至 37°C 恒温水浴锅中,将冻存管尽可能多的浸入

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 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°C 离心 5min,去上清并用培养基重悬。
8. 沉淀的细胞用肝窦内皮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,在 37°C/5%CO₂ 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°C 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°C 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,去上清并用肝窦内皮细胞培养基重悬。
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）