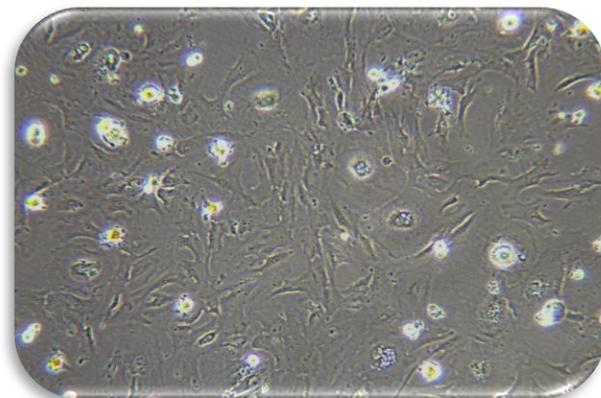


肝非实质细胞

Non-Parenchymal Cells

(可贴壁, Cat# LV-NPC001/2/3/4)

(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

非实质细胞(NPC)占肝脏细胞的20-30%左右,包括肝星形细胞、肝窦内皮细胞、肝库否细胞以及少量的成纤维细胞。各种细胞的比例受供体差异、分离过程等因素的影响会存在一定差异。肝非实质细胞对肝细胞的功能维持至关重要,与肝细胞共培养形成2D或者3D培养物日益成为肝脏基础研究、肝脏疾病研究与新药开发的新宠。

II 试剂与材料

- 肝非实质细胞 (Cat# LV-NPC001/2/3/4)
- NPC 培养基 (Cat# LV-NPCM001)
- 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. 将 NPC 培养基放入 37°C 恒温水浴锅中充分预热。
2. 将冻存的肝非实质细胞从冷藏位置经液氮迅速转移(建议泡沫盒/保温杯转移, 避免转移过程中 1-2°C/s 的复温, 复温可能导致细胞活力降低)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. 我司有两种冻存管, 即 2mL 冻存管、1.4mL 冻存管(带底部二维码/侧面条形码)。解冻 2mL 冻存管约 90~120s, 解冻 1.4mL 冻存管约 40-50s, 至冻存管中只有小块碎冰漂浮即可。**过度解冻可能影响细胞活率与细胞得率。**
4. 650g, 4°C 离心 10min.
5. 去除冻存液, 沉淀用 NPC 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。
6. 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 90% 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. 650g, 室温离心 10min, 去上清并用肝非实质细胞培养基重悬。
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。
7. 通常情况下, 肝非实质细胞可以传代 2-3 代, 传代次数增加可能导致细胞活化或者老化。

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。

VI 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）