

## 大鼠食管成纤维细胞

Cat NO.: CP-R354

### 一、产品简介

1. 产品名称：大鼠食管成纤维细胞
2. 组织来源：食管组织
3. 细胞简介：

大鼠食管成纤维细胞分离自食管组织；食管是咽和胃之间的消化管，食管在系统发生上起初很短，随着颈部的伸长和心肺的下降，而逐渐增长。食管可分为颈段、胸段和腹段。脊椎动物食管的颈段位于气管背后和脊柱前端，胸段位于左、右肺之间的纵膈内，胸段通过膈孔与腹腔内腹相连，腹段很短与胃相连。在发育过程中，食管的上皮细胞增殖，由单层变为复层，食管使管腔变狭窄，甚至一度闭锁，以后管腔又重新出现。哺乳动物的食管结构上由内向外分四层：黏膜层、黏膜下层、肌层和外膜。其中，黏膜层，包括上皮、固有层和黏膜肌层。食管的外膜，由疏松结缔组织构成，富有血管、淋巴管及神经。主要包含食管成纤维细胞，成纤维细胞（Fibroblast）是疏松结缔组织的主要细胞成分，由胚胎时期的间充质细胞分化而来。成纤维细胞较大，轮廓清楚，多为突起的纺锤形或星形的扁平状结构，其细胞核呈规则的卵圆形，核仁大而明显。成纤维细胞功能活动旺盛，细胞质嗜弱碱性，具明显的蛋白质合成和分泌活动，在一定条件下，它可以实现跟纤维细胞的互相转化；成纤维细胞对不同程度的细胞变性、坏死和组织缺损的修复有着十分重要的作用。刚分离的表皮成纤维细胞呈圆形、折光性良好，悬浮于培养基中。30min细胞贴壁，其中部分开始伸出伪足，表现为小的突起；6h后细胞基本贴壁完全，伸展成梭形，胞核清晰，分布较均匀，散在生长，不聚集成团；细胞生长迅速，5-7天即呈融合状态，细胞排列紧密，有的交叉重叠生长，平坦、胞体较大，细胞质透明，细胞核较大，呈椭圆形，颜色淡。细胞融合，并彼此连接成网状；细胞呈突起的纺锤形或星形的扁平分布。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠食管成纤维细胞采用胰蛋白酶 - 胶原酶混合消化法结合差速贴壁法制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的大鼠食管成纤维细胞经Vimentin免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

### 6. 培养信息：

培养基	基础培养基，含FBS、bFGF、Insulin、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-R354
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	成纤维细胞样



传代特性	可传2-3代左右
传代比例	1:2
消化液	0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

大鼠食管成纤维细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

大鼠食管成纤维细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈成纤维细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传2-3代左右；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。

### 2. 贴壁细胞消化

- 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；
- 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液1mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；
- 3) 用吸管轻轻吹打混匀，按传代比例接种T25培养瓶传代，然后补充新鲜的完全培养基至5mL，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
- 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察，用于实验；之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

### 3. 复苏操作说明

1. 准备好37度水浴锅，预热至37度；
2. 准备好T25培养瓶，加入8-10ml完全培养基（培养基量必须大于冻存液10倍体积）；
3. 取出干冰内冻存细胞管，用EP手套包裹冻存管（防止管内进水导致污染），迅速放于水浴锅内，于1min内融化完全；
4. 取出冻存管，酒精喷洒消毒后擦干，置于超净台内；
5. 吸取冻存管内细胞悬液，加入步骤2中准备好的T25培养瓶内，8字缓慢摇匀；
6. 培养瓶放于37度CO<sub>2</sub>恒温培养箱内，静置培养24h，更换新鲜换培养基（注意贴壁细胞、悬浮细胞不同换液操作方法）。



#### 4. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），明胶（ $0.1\%$ ），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

1. 培养基于 $4^\circ\text{C}$ 条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

