

## 人骨骼肌细胞（原代永生化）

Cat NO.: CP-H095Y

### 一、产品简介

1. 产品名称：人骨骼肌细胞（原代永生化）
2. 组织来源：骨骼肌组织
3. 细胞简介：

人骨骼肌细胞（原代永生化）是原代人骨骼肌细胞经慢病毒转染的方式携带SV40T基因，经抗生素和传代筛选获得。人骨骼肌细胞分离自四肢肌肉组织；骨骼肌又称横纹肌，肌肉中的一种，约占全身重量的40%。骨骼肌纤维为长柱形的多核细胞，肌膜的外面有基膜紧密贴附。属于横纹肌，横纹肌还包括心肌与内脏横纹肌，其中骨骼肌主要分布于四肢。每块肌肉都是具有一定形态、结构和功能的器官，有丰富的血管、淋巴分布，在躯体神经支配下收缩或舒张，进行随意运动。肌肉可根据其形状、大小、位置、起止点、纤维方向和作用等命名。依形态命名的如斜方肌、菱形肌、三角肌、梨状肌等。骨骼肌细胞呈纤维状，不分支，有明显横纹，核很多，且都位于细胞膜下方。肌细胞内有许多沿细胞长轴平行排列的细丝状肌原纤维。每一肌原纤维都有相间排列的明带（I带）及暗带（A带）。明带染色较浅，而暗带染色较深。暗带中间有一条较明亮的线称H线。H线的中部有一M线。明带中间，有一条较暗的线称为Z线。两个Z线之间的区段，叫做一个肌节。骨骼肌细胞也称横纹肌细胞，细胞呈纤维状，不分支，有明显横纹，核很多，且都位于细胞膜下方，细胞多呈梭形，具有一定的方向性。骨骼肌细胞原代分离培养3天后，可见细胞贴壁伸展，细胞形态大小不一，呈梭形、不规则形、三角形或扇形，核卵圆形、居中；2周后细胞汇合，多数细胞伸展呈长梭形，胞浆丰富，有分枝状突起，细胞平行排列成单层或部分区域多层重叠生长，高低起伏；细胞密度低时，常交织成网状；密度高时，则排列为漩涡状或栅栏状。传代后细胞生长较快，4-6天即可汇合，并保持上述形态学特征和生长特点。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人骨骼肌细胞（原代永生化）是原代人骨骼肌细胞经慢病毒转染的方式携带SV40T基因，经抗生素和传代筛选获得，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人骨骼肌细胞（原代永生化）经 $\alpha$ -Sarcomeric actin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：

携带基因	SV40T、Puro
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H095Y
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3-5代左右，3代以内状态最佳
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%

人骨骼肌细胞（原代永生化）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

人骨骼肌细胞（原代永生化）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3-5代左右，3代以内状态最佳；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，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. 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 μg/cm<sup>2</sup>），多聚赖氨酸PLL（0.1mg/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℃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。

#### 特殊注意事项

6. 第一次传代建议1:2进行，消化时间不要太久，避免细胞发生死亡。

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

