人心肌成纤维细胞（原代永生化）

Cat NO.: CP-H078Y

一、产品简介

1. **产品名称：**人心肌成纤维细胞（原代永生化）
2. **组织来源：**心脏组织
3. **细胞简介：**

人心肌成纤维细胞（原代永生化）是原代人心肌成纤维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。人心肌成纤维细胞分离自心脏组织；心脏由心肌细胞和非心肌细胞组成，非心肌细胞占细胞总数的70%，其中90%以上的非心肌细胞由心肌成纤维细胞组成。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。刚分离的心肌成纤维细胞呈圆形、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；6 h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。近年来，人们逐渐了解到非心肌细胞不仅对心肌细胞具有结构上的支持、保护作用，而且还具有自分泌和旁分泌功能，影响心肌细胞的结构和生理功能；心肌成纤维细胞主要功能为对心肌细胞起结构支持作用并负责细胞基质外的合成，当心肌损伤时能产生旁分泌生长因子。心肌成纤维细胞是心脏结缔组织中最常见的细胞，可合成和分泌胶原纤维、弹性纤维、网状纤维及有机基质，并且在外伤等因素刺激下，部分纤维细胞可重新转变为幼稚的成纤维细胞，其功能活动也得以恢复，参与组织损伤后的修复。因此，对心肌成纤维细胞的生理学研究成为现代心血管领域研究的一个重点。

4. **方法简介：**

普诺赛实验室分离的人心肌成纤维细胞（原代永生化）是原代人心肌成纤维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5×10^5 cells/瓶。

5. **质量检测：**

普诺赛实验室分离的人心肌成纤维细胞（原代永生化）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：**

携带基因	SV40T、puro
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H078Y
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	长梭形
传代特性	大于5-10代
传代比例	第一次1:2，之后1:2-1:3
消化液	0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO_2，5%

人心肌成纤维细胞（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

人心肌成纤维细胞（原代永生化）是一种贴壁细胞，细胞形态呈长梭形，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞大于5-10代；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°C、5%CO2、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°C温浴2-5min；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°C、5% CO2、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 I （2-5 μ g/cm^2），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。

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

普诺赛® Procell | Pricella