

产品规格	>1 × 10 ⁶ 细胞数
包装规格	1ml 冻存细胞悬液或 T-25 培养瓶
培养体系	推荐人瘢痕疙瘩成纤维细胞永生化专用培养基使用

细胞详述:

瘢痕疙瘩是一种具有浸润生长特性的病理性瘢痕，治疗后复发率高。成纤维细胞是瘢痕疙瘩形成与增生的效应细胞，瘢痕疙瘩组织学特点为大量成纤维细胞增生。

该细胞通过慢病毒转染的方式携带SV40基因（转染后此细胞带有嘌呤霉素抗性）。

细胞特性:

- 1)细胞来源：手术切除的瘢痕疙瘩组织
- 2)细胞鉴定：纤维连接蛋白（Fibronectin）或波形蛋白（Vimentin）免疫荧光染色为阳性
- 3)细胞纯度：高于90%
- 4)细胞质检：不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌
- 5)生长形态：成纤维样细胞
- 6)生长特性：贴壁培养

产品使用:

- 1)本产品仅能用于科研
- 2)本产品未通过直接用于活体动物和人的审核
- 3)本产品未通过用于活体诊断的审核

一、细胞收到后处理

请显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10×，20×) 各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作，不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察：未超过80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，重新加入6ml完全培养基，放入37℃、5%CO₂孵箱培养；超过80%汇合度时，根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。

(注意发货的是密封培养瓶的话，处理完后放入培养箱培养记得培养瓶子拧松，初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2)

二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入6cm皿中)，培养过夜。第二天换液并检查细胞度。

2. 细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1：弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

2：加1-2ml消化液(0.25% Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中 置于37℃培养箱中消化1-2min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加5ml以上 含10%血清的完全培养基终止消化。

3：轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

4：将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

1：收集细胞，1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀，将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

2：较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1：2到1：3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3：细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及 DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。