

## 小鼠肝星状细胞永生化

### 一、细胞简介

细胞简介	肝星状细胞 (HSC) 位于 Disse 间隙内，紧贴着肝窦内皮细胞和肝细胞。其形态不规则，胞体呈圆形或不规则形，常伸出数个星状突包绕着肝血窦。此外，HSC 还伸出胞突与肝细胞、邻近的星状细胞相接触。HSC 是 ECM 的主要来源，HSC 激活并转化为肌成纤维细胞样细胞(MFC)，各种致纤维化因素均把 HSC 作为最终靶细胞。肝星状细胞激活并转化为肌成纤维细胞样细胞(MFC)，各种致纤维化因素均把 HSC 作为最终靶细胞，正常情况下肝星状细胞处于静止状态。当肝脏受到炎症或机械刺激等损伤时，肝星状细胞被激活，其表型由静止型转变为激活型。激活的肝星状细胞一方面通过增生和分泌细胞外基质参与肝纤维化的形成和肝内结构的重建，另一方面通过细胞收缩使肝窦内压升高。 该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。

细胞名称	小鼠肝星状细胞永生化		
细胞别称	Immortalization of mouse hepatic stellate cells		
细胞货号	Delf-11546		
来源	小鼠；肝		
细胞形态	长梭状，星状细胞		
生长特性	贴壁生长		
细胞鉴定	结蛋白 (Desmin) 免疫荧光染色为阳性。		

培养条件	推荐使用小鼠肝星状细胞永生化专用培养基（货号：Delf-15880）培养该细胞。			
	名称	体积	浓度	保存条件
	小鼠肝星状细胞永生化基础培养基	440ml	1×	4℃、避光
	小鼠肝星状细胞永生化培养添加剂	5ml	100×	-20℃、避光
	胎牛血清 (FBS)	50ml	终浓度 10%	-20℃、避光
	双抗 (青霉素/链霉素, P/S)	5ml	100×	-20℃、避光
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，培养箱湿度为70%-80%。			

### 二、细胞复苏方法

复苏步骤	1、将冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻； 2、加入到含 4-6mL 基础培养基（含 10%FBS）的离心管中混合均匀； 3、在 1000RPM 条件下离心 5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞；
------	---

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



	4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃ 培养；
<b>三、细胞传代方法</b>	
传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基; 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，吸走润洗的 PBS; 3、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL); 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 (1 到 2 分钟，难消化的细胞适当增加时间)； 5、消化到细胞大部分变圆并脱落，轻敲培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的基础培养基终止消化； 6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 5min，弃上清；补加 1-2ml 完培吹匀； 7、按 1:2 分配到新的培养瓶中，添加 6-8ml 完培保持细胞生长；
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程
<b>四、细胞冻存方法</b>	
冻存液配方	冻存液: 90% 血清, 10%DMSO, 现用现配(推荐使用 DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090 进行冻存细胞，快速，便捷)。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；
<b>五、注意事项</b>	
注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

