

人脂肪干细胞永生化

一、细胞简介				
细胞简介	根据不同来源及分化阶段，干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞具有分化为多种不同组织的能力，但在伦理上存在争议。成体干细胞因其来源广泛、增殖能力强等特点，现已成为组织工程学研究的首选种子细胞。其中，脂肪干细胞作为组织工程修复的种子细胞，因其具有来源丰富、取材容易、增殖能力强等优点，正受到越来越多的关注。 脂肪干细胞形态类似成纤维细胞，具有较强的增殖能力。在一定的诱导条件下，可分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、心肌细胞、上皮细胞等，具有多向分化潜能。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。			
细胞名称	人脂肪干细胞永生化（Immortalization of human adipose-derived stem cells）			
细胞货号	Delf-11536			
来源	人；脂肪			
形态特性	长梭形细胞，不规则细胞，贴壁生长			
细胞鉴定	CD44 免疫荧光染色为阳性，CD45 免疫荧光染色为阴性。			
培养条件	推荐使用 人脂肪干细胞永生化专用培养基（货号：Delf-16072） 培养该细胞。			
	名称	体积	浓度	保存条件
	人脂肪干细胞永生化基础培养基	440ml	1×	4℃、避光
	人脂肪干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 4ml 常规培养基（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； 4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的 T25 培养瓶（或 6cm 皿）中 37℃ 培养箱培养；			
三、细胞传代方法				
传代比例	1:2（具体情况视细胞生长速度及密度决定）			

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



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 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 2min 左右（不同胰酶，消化时间不同，要根据细胞脱落情况，在进行终止消化）； 5、轻轻侧拍 T25 培养瓶镜下观察，消化到细胞脱落在胰酶当中后，加入 2-3ml 含 10%FBS 的常规培养基终止消化； 6、1000rpm 离心 5min，收集到 15ml 离心管中加 2ml 该细胞完全培养基，重悬细胞时，在离心管中轻轻吹打，把细胞混匀； 7、按 1:2 分配到新的 T25 培养瓶中，添加 4-5ml 完全培养基放回 37℃培养箱；		
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		
四、细胞冻存方法			
冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 原代细胞无血清冻存液 Delf-11614 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（本公司是 1 个 T25 培养瓶长满冻存 1 支冻存管）； 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；		
五、注意事项			
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

