

## 人食管平滑肌细胞

Cat NO.: CP-H032

### 一、产品简介

1. **产品名称：**人食管平滑肌细胞

2. **组织来源：**食管组织

3. **细胞简介：**

人食管平滑肌细胞分离自食管组织；食管可分为颈段、胸段和腹段，脊椎动物食管的颈段位于气管背后和脊柱前端，胸段位于左、右肺之间的纵膈内，胸段通过膈孔与腹腔内腹相连，腹段很短与胃相连。哺乳动物的食管结构上由内向外分四层：黏膜层、黏膜下层、肌层和外膜。其中，肌层上1/3段为骨骼肌，下1/3为平滑肌，中段为骨骼肌和平滑肌混合组成。其中，肌纤维的排列方式分为内环形和外纵形两层。食管的蠕动是由食管平滑肌收缩严格控制，食管还有括约肌，位于环状软骨水平的，称为食管上括约肌；位于食管下端，一部分在膈上，穿过膈孔，另一部分在膈下的高压带，称为食管下括约肌。食管平滑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，则排列为旋涡状或栅栏状。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食管平滑肌细胞采用胰蛋白酶-胶原酶联合消化法结合差速贴壁法制备而来，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食管平滑肌细胞经 $\alpha$ -SMA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：**

|      |                                     |
|------|-------------------------------------|
| 培养基  | 含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等 |
| 产品货号 | CM-H032                             |
| 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%       |



人食管平滑肌细胞体外培养周期有限；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

人食管平滑肌细胞是一种贴壁细胞，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°C、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，吸出多余胰蛋白酶消化液，37°C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°C、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 I（2-5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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°C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

