思泰默（上海）生物科技有限公司
Website：www.stemrecell.com

hBrSMCs 人支气管平滑肌细胞永生化

产品名称：人支气管平滑肌细胞永生化
别称： hBrSMCs
背景描述：该细胞来源于人正常支气管组织，是由人支气管平滑肌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）转化而来的。平滑肌即无纹肌的通称，平滑肌是由长纺锤形的单核细胞构成。它不构成独立的器官，而只是成为构成体壁和内脏壁的因素（肌层）。平滑肌细胞互相连接，形成管状结构或中空器官；在功能上可以通过缩短和产生张力使器官发生运动和变形，也可产生连续收缩或紧张性收缩，使器官对抗所加负荷而保持原有的形状。支气管平滑肌细胞的收缩、舒张、增殖和凋亡与临床许多疾病的病理生理过程有关，如支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病等。例如在哮喘发病时，可以检测到气管平滑肌发生数目的增生和肥大，表型也发生改变，由收缩型转为合成型与分泌型，并分泌多种与细胞因子；而且出现向气管腔迁移的迹象。
种属：人
年龄（周龄）：未知
组织来源：正常支气管组织
生长特性：贴壁细胞
细胞形态：长梭状细胞
细胞类型：转化细胞系
生长培养基：人支气管平滑肌细胞永生化专用培养基
推荐传代比例：1:2-1:4 （具体情况视细胞生长速度及密度决定）
推荐换液频率：2-3 次/周
倍增时间：未知
冻存条件：冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮
培养条件：气相：空气，95%；CO2，5% 温度：37℃
细胞用途：仅供科研使用

常温细胞收货当天处理方法

1. 常温细胞收货后确认外观和细胞状态，不开瓶盖酒精擦拭细胞瓶外表面，将其置于培养箱内复温 4h 以上，常温细胞会因运输出现状态回缩和部分脱落，为正常现象，可复温后再次观察细胞状态并拍照，通常复温后细胞状态会恢复正常；复温后开瓶前细胞如有异常，请及时与我们联系，逾期视为对细胞产品状态无异议，细胞到货后前三天请保留真实清晰的培养照片；

2. 复温后将培养瓶内多余的旧完全培养基吸出，该培养基为维持培养基不可以继续使用，更换 6-8ml 新鲜的完全培养基，此时细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%后，可进行细胞传代；

3. 对于悬浮细胞和半贴壁细胞，收集的旧培养基上清中的悬浮细胞是活细胞，需用离心管收集上清细胞悬液后，于 1000rpm 离心收集细胞接种继续培养；

4. 对于有传代增殖能力的细胞系，确认细胞状态良好后应及时冻存留种；因部分细胞有难复苏的特性，建议在保留部分细胞继续培养的同时及时将部分细胞冻存并预留一管质检管，质检管复苏成功确认冻存体系无误后再大量或全部冻存，不建议到货后将细胞一次性全部冻存。

冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后不要让冻存细胞离开干冰；若收到细胞时不复苏，请及时将细胞转移至-80℃或液氮罐中，注意转移过程动作要迅速，冻存细胞不可至于-20℃储存；

2. 复苏前，请提前准备好适合该细胞生长的培养基和细胞复苏流程，复苏时离心后吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤，若复苏有异常，请及时与我们联系。

售后条例

■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞于收货当日对细胞状态有异议，开瓶操作前拍照反馈联系人的，可要求换货处理，不做换货要求的，可做退货处理，开瓶前细胞如有异常，请及时与我们联系，逾期不反馈开瓶操作视为对常温细胞状态无异议；
2. 常温细胞开瓶前有漏液污染状态异常等现象，于收货当日拍照反馈，细胞不能调整恢复的，免费重发，要求退货处理仅限开瓶操作前；
3. 冻存细胞到货后有冻存管破损、冻存管融化等情况并及时反馈的，免费重发；
4. 冻存细胞复苏有问题反馈后在技术指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用；
5. 细胞到货状态正常，7 日内出现客观因素导致的留种失败并及时反馈的，签收 7 天内可以提供免费补发（只适用于细胞系），若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用。

■ 不符合免费重发的条件：

1. 客户延迟收货处理时间未于签收当日做收货处理的；
2. 未使用说明书推荐的培养条件，因不合适的试剂、传代比例或经其它非细胞培养体系外源试剂等客户主观性的处理失误导致细胞出现问题的；
3. 细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈，导致错过指导细胞恢复时间的。
4. 签收一月内可申请低价复购细胞。

细胞操作规程，仅供参考

■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，迅速放入 37℃水浴中快速摇晃解冻；解冻时应注意防护，如果冻存管中有残留液氮，需要拧松管口在液氮气化后再水浴解冻避免因管内外压差爆管；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

■ 贴壁细胞传代

1. T25 瓶细胞汇合度至 80-90%，吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞,吸出 PBS；
3. 加入 1-2ml 左右 0.25%胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化适当时间，具体细胞消化时长根据细胞状态调整，在显微镜下观察细胞消化情况，轻敲或请摇培养瓶若大部分细胞可以变圆并脱落时可终止，后加入 3ml 含 10%血清的培养基终止消化，不建议用枪吹打消化中尚未脱壁的细胞；
5. 轻轻混匀后收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
6. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞按推荐比例接种到新培养瓶，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养，细胞首次传代建议 1：2 比例接种。
7. 步骤 5 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

■ 半贴壁细胞传代

1. T25 瓶为例，吸出原培养液，上清中悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集细胞悬液后，于 1000 rpm 离心 5min 收集细胞；
2. 部分贴壁不牢的细胞可直接培养基轻轻吹起使之悬浮；贴壁较牢固的细胞按贴壁细胞传代步骤传代；
3. 用培养基重悬两部分细胞并合并，接种于新瓶中。

■ 悬浮细胞传代

1. 悬浮细胞可通过补充新鲜培养基或者离心换液两种方式维持培养；
2. 对于离心换液传代法：收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
3. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
4. 步骤 2 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可重复离心收集细胞接种新瓶。

■ 细胞冻存

1. 按细胞传代步骤收集消化好的细胞， 细胞沉淀加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般（1-3）x10^6/ml,分装至细胞冻存管中；
2. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于-80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，冻存程序按冻存液说明书操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。