

## 人椎间盘纤维环细胞

Cat NO.: CP-H174

## 一、产品简介

1. 产品名称：人椎间盘纤维环细胞
2. 组织来源：椎间盘组织
3. 细胞简介：

人椎间盘纤维环细胞分离自椎间盘组织；椎间盘是位于脊柱两椎体之间，由软骨板、纤维环、髓核组成的一个密封体。上下有软骨板，是透明软骨复盖于椎体上，下面髓环中间的骨面。上下的软骨板与纤维环一起将髓核密封起来。纤维环由胶原纤维束的纤维软骨构成，位于髓核的四周。纤维环的纤维束相互斜行交叉重叠，使纤维环成为坚实的组织，能承受较大的弯曲和扭转负荷。纤维环的前侧及两侧较厚，而后侧较薄。纤维环的前部有强大的前纵韧带，后侧的后纵韧带较窄、较薄。纤维环细胞密度为9000个细胞/mm<sup>3</sup>，其外层的细胞呈梭型，主要属于纤维细胞，内层细胞呈圆形，主要属于软骨细胞。在培养的情况下，用透射电镜观察则有许多共同的超微结构表现，它们的核较圆，核仁较明显。细胞质内可见大量的附有核糖体颗粒的粗面内质网和滑面内质网。细胞质内线粒体多，为椭圆形，有的可看到双层单位膜，由单位膜包绕初级深酶体和次级深酶体。细胞质内有一系列的扁平囊及小泡主成的高尔基复合体和分泌颗粒，纤维环细胞合成分泌蛋白多糖及胶原纤维的能力很旺盛，保证纤维环生理代谢活动所需的构造物质的供给。一但这种供给减少，纤维环的生物性能就会减弱，椎间盘开始退变。

## 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人椎间盘纤维环细胞采用胶原酶-中性蛋白酶联合消化法并结合软骨细胞专用培养基培养筛选制备而来，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椎间盘纤维环细胞经 型胶原蛋白免疫荧光鉴定，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-H174
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	梭形、多角形
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%



人椎间盘纤维环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

人椎间盘纤维环细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈梭形、多角形，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℃、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℃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℃、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（2-5 μg/cm<sup>2</sup>），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℃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

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

