

## 人源心肌细胞(IPSC 诱导心肌细胞)

一、基本信息	
细胞名称	人源心肌细胞(IPSC 诱导心肌细胞)
细胞品牌	江蓝纯生物
种属来源	人
组织来源	/
生长特性	/
细胞形态	/
细胞简介	<p>人源心肌细胞（正常型）是一种即用型的高纯度心肌细胞产品。将诱导多能干细胞高效分化、纯化而成。心肌细胞主要由具备自主电生理活动的心室肌样细胞组成，同时也包含少量心房肌和窦房结样细胞。这些细胞表达常规的心肌特异性基因，包括多种收缩蛋白和离子通道。同时，心肌细胞具备经典的心肌细胞电生理活性，能够对电学、生物化学和机械刺激做出心肌细胞的常规反应。以电生理和钙转导信号记录为例，这些细胞可以作为新药筛选，毒理学测定和其他生理学研究的理想工具。</p>
产品优势	<p>高纯度人源细胞：与传统鼠源心肌细胞不同，心肌细胞是一种高纯度的体外人源细胞。严格的质检把控，确保心肌细胞纯度达 95%以上。特有人类心肌细胞属性。</p> <p>动作电位：具备正常人类心脏的标准电生理学特征，受到电刺激后产生搏动。</p> <p>收缩功能：具备正常人类心脏的电收缩偶联，具备心脏特有的收缩功能，自主搏动节律接近成人窦性心律。</p>

	离子通道：具备正常人类心肌细胞的绝大部分离子通道，为科学研究提供更准确的模型疾病特异型细胞通过重编程疾病特异型体细胞，例如表皮成纤维细胞及 CD34+ 血细胞。
细胞规格	5x10 <sup>5</sup> cells/T25 或 1mL 冻存管
培养基	人源心肌细胞专用培养基
传代特征	心肌 IPSC 诱导心肌细胞是终末分化的功能细胞，与人体内的心肌细胞性质相同，不能增殖扩增
冻存细胞	冻存细胞存于-80℃冰箱，2 周有效期；长期需液氮储存
消化液	/
细胞货期	7-8 周左右
发货方式	复苏发货（免运输费用）/ 冻存发货（需加干冰运输费用）
供应范围	仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用
特别说明	具体操作步骤以随货产品说明书为主

## 二、细胞培养操作

需要材料	1.DPBS, No Calcium, No Magnesium 2.RPMI1640 3.FBS
心肌细胞进行再接种	<p><b>a.</b>如果需要将心肌细胞按合适密度接种到新的培养皿/瓶中，可对心肌细胞进行再接种，再接种操作会导致 20%左右的细胞死亡，即损失 20%的细胞。</p> <p><b>b.</b>室温平衡心肌细胞复苏液、DPBS 溶液，37℃预热心肌细胞消化液。</p> <p><b>c.</b>取出心肌细胞铺板液包被过的培养皿/瓶，吸去心肌细胞铺板液并加入适量心肌细胞复苏液，置于 5%CO<sub>2</sub> 的 37℃恒温细胞培养箱中。</p> <p><b>d.</b>吸除心肌细胞培养基，加入 DPBS 溶液清洗一次。</p> <p><b>e.</b>移除 DPBS，加入预热的的心肌细胞消化液使之完全覆盖皿/瓶底。</p> <p><b>f.</b>37℃孵育 3-5 分钟，显微镜下观察到大部分细胞相互分离，表明达到理想的消化时间。</p>

	<p><b>g.</b>向皿/瓶中加入消化液 3-5 倍体积的 RPMI1640+10%FBS 终止消化，用枪扇形吹打培养皿/瓶底，使皿/瓶底贴附的心肌细胞脱落，将细胞转移至 15ml 离心管中，再加入适量中和液冲洗皿/瓶底，收集剩余细胞加入 15ml 离心管中，300g 离心 5 分钟。</p> <p><b>l.</b>小心移除上清，用心肌细胞复苏液重悬细胞，轻柔吹打混匀，并接种到包被过的培养皿/瓶中，十字晃动使细胞均匀分布。</p> <p><b>ll.</b>5%CO<sub>2</sub> 的 37°C 恒温培养箱中培养 24-48 小时后，更换为心肌细胞培养基继续培养。</p> <p><b>lll.</b>心肌细胞需要在二氧化碳培养箱中继续培养 2-8 天恢复搏动；此期间心肌细胞需要每隔 48h 换一次心肌细胞培养基。</p> <p>重要提醒：吹打力度要轻柔，避免损伤细胞。亦可用心肌细胞培养基+10%FBS 终止消化。</p>
培养材料准备	<p>心肌细胞铺板液包被培养皿/瓶：在 4°C 冰面上，往培养皿/瓶中添加心肌细胞铺板液至完全覆盖皿/瓶底(建议 1ml/六孔板单孔)，37°C 包被 1 小时。如果暂时不用，可用塑封膜封口后 2-8°C 储存，并于 1 周内使用，保存期间心肌细胞铺板液需始终保持完全覆盖皿底。</p> <p>重要提醒：操作时需要将铺板液始终置于冰上；正确操作下铺板液应呈清亮，若操作时间过长或温度过高，铺板液会变得粘稠甚至呈胶状，不宜使用。</p>
心肌细胞复苏(适用于冻存的细胞)	<p><b>a.</b>将心肌细胞复苏液从 4°C 冰箱中取出，室温平衡 30 分钟。</p> <p><b>b.</b>打开水浴锅，设定温度为 37°C。</p> <p><b>c.</b>开启生物安全柜进行紫外灭菌 30 分钟。</p> <p><b>d.</b>在冰上将 1ml 心肌细胞铺板液加入 6 孔板的一个孔中(0.1ml/cm<sup>2</sup>)，随即前后左右晃动 6 孔板，使铺板液均匀覆盖孔的表面。</p> <p><b>e.</b>将剩余铺板液迅速放回冰箱，将 6 孔板放入细胞培养箱中孵育 1 小时。</p> <p><b>f.</b>取出孵育好的 6 孔板，放于生物安全柜中，吸除心肌细胞铺板液后，立刻在孔内加入 1ml 心肌细胞复苏液。</p>

- g.**从高效液氮储存罐中取出需要复苏的细胞，将其放于干冰中暂存。
- h.**从干冰中取出细胞，迅速将冻存管的下 1/2 没入水浴锅中，轻柔晃动 1-2 分钟至管中仅剩一小块冰时，将其取出。
- i.**75%酒精擦拭冻存管表面后，将其放入生物安全柜中，拧开管盖，用 1ml 枪尖轻柔的将管中液体尽可能多的转移至 15ml 离心管中，用 1ml 心肌细胞复苏液轻柔冲洗冻存管，以 5 秒钟一滴的速度将冲洗液缓慢滴加入 15ml 离心管，边滴加边轻柔晃动离心管。
- j.**再用枪尖以同样速度，滴加 1ml 心肌细胞复苏液至 15ml 离心管，边滴加边轻柔晃动离心管。
- k.**用移液管由慢（2 秒钟一滴）到快的滴加 9ml 心肌细胞复苏液，同时轻柔晃动离心管。300g 离心 5 分钟。
- l.**在生物安全柜内吸除上清，用 2ml 移液管取 1ml 心肌细胞复苏液轻柔吹打细胞沉淀 3-5 次后，将其加入 6 孔板中，前后左右十字晃动混匀（可按比例稀释计数）。
- m.**显微镜下观察，细胞均匀分布。
- n.**在 6 孔板上标记好细胞名称、日期以及操作人员后，将其放入细胞培养箱，再次前后左右晃动混匀，放入细胞培养箱种培养 24-48 小时至绝大多数细胞贴壁后即可换液为心肌细胞培养基。
- 重要提醒：心肌细胞复苏计数后，可按需求接种至需要的培养容器；
- 心肌细胞培养时，按照推荐的密度接种，能够抑制成纤维细胞生长速度；
- 重要提醒：心肌细胞复跳后，建议继续培养 1-2 天稳定细胞状态。

## 心肌细胞维持

- a.**将心肌细胞培养基室温平衡 30 分钟。
- b.**将心肌细胞用心肌细胞培养基培养，每 48 小时换液一次。更换时，贴壁加入培养基避免刮碰细胞；亦可加入标准量 150%的心肌细胞培养基，每 72 小时换液一次。
- 重要提醒：细胞在 6-8 周内性状稳定。如果需要长期培养，为了维持细胞稳定性和纯度，需要定期采用心肌细胞纯化液进行处理,一般每 6 周处理一次

### 三、注意事项

重要提醒	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 培养基于 4°C 条件下可保存 3-6 个月。</li><li>2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。</li><li>3. 传代培养过程中，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。</li><li>4. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。</li></ol>
到货须知	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 收到细胞后，首先观察并拍照记录细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，若有上述现象发生请及时和我们联系。</li><li>2. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照（当天以及第 2,3 天请拍照），记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照、记录细胞生长状态。</li><li>3. 由于运输的原因，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，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解决。</li><li>4. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。</li></ol>

### 四、售后服务

细胞予重发	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。</li><li>2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。</li><li>3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。</li><li>4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。</li></ol>
-------	--

	<p>5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。</p> <p>6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。</p>
细胞不重发	<p>1. 客户操作造成细胞污染，不重发。</p> <p>2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。</p> <p>3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。</p> <p>4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。</p> <p>5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。</p> <p>6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。</p>