

新生大鼠原代心肌细胞分离试剂盒

产品货号: BA3154

产品规格: 1kit

产品简介:

新生大鼠原代心肌细胞分离试剂盒是乐业开发的一款用于新生大鼠心脏原代心肌细胞分离和培养的高效试 剂盒。在细胞分离中,充分优化分离过程以及培养试剂,可获得高纯度、高活性的原代心肌细胞。

产品特点:

高效分离原代心肌细胞,产量提高1.5-4倍。可分离得到高纯度、高活性心肌细胞。

产品组成:

产品名称	规格	数量	保存条件
Wash buffer	125ml	2瓶	2-8°C
Rat Cardiomyocytes Culture Medium	125ml	2瓶	2-8°C
Ready-to-use Gel	100ml	1瓶	2-8°C
Rat Cell Dissociation Solution	125ml	1瓶	-20°C

应用:

大鼠原代心肌细胞分离培养

使用说明:

一、实验准备:

- 1. 使用 75%酒精擦拭试验台;
- 2. 准备酒精灯、酒精棉及用于盛放实验处理后大鼠的垃圾袋;
- 3. 剪刀、镊子、微型镊子等解剖用具需提前进行灭菌处理;
- 4. 吸取适量 Wash Buffer 至培养皿中并放置于冰上(细胞房内操作)。 注意:细胞房和超净工作台需提前进行紫外灭菌处理;培养皿大小的选择取决于实验时所取心脏的数目, Wash Buffer一直放于冰上保持低温。
- 5. Rat Cell Dissociation Solution 在 4℃融化,分装,放-20℃长期保存,不要反复冻存。
- 6. 培养板用 Ready-to-use Gel 提前 60min 包被。(6 孔板: 1ml/孔; 10cm dish:7ml/孔)

二、操作方法:

- 1. 取心脏
 - (1) 左手捏住大鼠背部皮肤,使用酒精棉(75%酒精)擦拭小鼠胸腹,用解剖剪在小鼠剑突处正中线偏左向上剪开,略压胸骨,使心脏自然跳出,用弯镊子勾住心脏根部,取出心脏,置于盛有预冷Wash buffer的培养皿中。
 - (2) 在解剖镜下使用微型镊子和解剖剪剪去心房。
- 2. 组织清洗: 经酒精擦拭后,将培养皿移入细胞房。
- 3. 超净工作台,用预冷的 Wash buffer 清洗 3 次,去除血污后,将心脏剪成约 1mm3 的组织块,再清洗 2 次。
- 4. 预消化

加入1-3ml Rat Cell Dissociation Solution, 37°C水浴中摇动,消化1min后弃上清。



Zheng zhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd 地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号 免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799 Q Q: 807961520 731791866 邮箱: zzlybio@126.com



5. 消化

- (1) 在50ml离心管中加入5ml Rat Cell Dissociation Solution, 37℃水浴中摇动消化7min后将将上清液加入预冷的5ml Rat Cardiomyocytes Culture Medium中,混合均匀并置于冰上,保持低温。注意:每次Rat cell Dissociation Solution使用的量可根据组织块的多少进行调整。
- (2) 重复4. (1) 的步骤直至组织完全消化。

注意: 吸取上清时尽量避免吸出沉淀。

(3)将收集的上清在室温下1260rpm,离心5min ,轻轻吸除上清,用Rat Cardiomyocytes Culture Medium重 悬细胞。

6. 差速贴壁:

细胞通过70um/100μm滤网过滤,并通过以下方式进行差速贴壁,A、直接接种到培养板中;此时,使用Ready to-use Gel包被培养板,以备后续细胞铺板使用。

注意: 解育时间根据不同品牌培养板贴壁能力不同, 贴壁时间可以做出适当调整。因为不同品牌培养板贴壁能力不同, B选项进行包被, 可以提高细胞贴壁比例。

7. 细胞铺板:

取出差速贴壁培养皿,将上清细胞悬液移入15ml离心管中,1260rpm,离心5min,轻轻吸除上清,用已经预先加热至37℃的1-2ml Rat Cardiomyocytes Culture Medium重悬细胞。利用血细胞计数板进行细胞计数,用台盼蓝检测细胞存活率。根据所计的细胞数使用Rat Cardiomyocytes Culture Medium进行稀释调整细胞浓度,将细胞移至预先使用Ready-to-use Gel包被好的培养皿/板中。

8. 观察

将培养板放入细胞培养箱中培养24h后观察细胞状态,若细胞状态佳且浓度合适,则可进行后续实验。

有效期: 12个月有效