

小鼠角膜上皮细胞永生化（免疫荧光鉴定）

【产品介绍】

角膜位于眼球前壁的一层透明膜，约占纤维膜的前 1/6，从后面看角膜呈正圆形，从前面看为横椭圆形。

角膜厚度各部分不同，中央部最薄。

角膜分为五层，由前向后依次为：上皮细胞层、前弹力层、基质层、后弹力层、内皮细胞层。

角膜上皮细胞的体外培养对研究角膜的生理学、病理学、免疫学以及分子生物学都是极为重要的手段，常用于研究细胞代谢产物、病毒感染、各种生长因子和药物对细胞生长的影响。

该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。

【包装】

产品编号	产品名称	发货状态	规格
TS-708	小鼠角膜上皮细胞永生化	复苏	T25 瓶
		冻存	1mL 冻存管*2

【细胞特性】

细胞来源	实验动物的正常眼组织
细胞鉴定	广谱角蛋白(PCK)免疫荧光染色为阳性
细胞形态	上皮样，不规则细胞，贴壁培养

细胞纯度	高于 90%
无菌检测	不含有 HIV-1、 HBV、 HCV、 支原体、 细菌、 酵母和真菌
供应限制	仅限于研究使用

【推荐培养基】

我们推荐使用原代上皮细胞培养体系作为体外培养原代角膜上皮细胞的培养基。

名称	体积	浓度	保存条件
原代上皮细胞基础培养基	500ml	1×	4℃、避光
原代上皮细胞培养添加剂	5ml	100×	-20℃、避光
胎牛血清 (FBS)	10ml	终浓度2%	-20℃、避光
双抗 (青霉素/链霉素, P/S)	5ml	100×	-20℃、避光

【细胞处理】

【复苏细胞】

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4-6mL 完全培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶(或皿)中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

【细胞传代】

如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

【细胞冻存】

待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

【对于贴壁细胞，传代可以参考以下方法】

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)，置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间)，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

细胞冻存:收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

【运输和保存】

视天气状况和运输距离远近，公司与客户协商后选择下述方式中的一种进行。

1mL 冻存细胞悬液装于 1.8ml 的冻存管中，置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输；收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养，如无法立刻进行复苏操作，冻存细胞可在-80°C 的条件下保存 1 个月。

T-25 培养瓶充满完全培养基后进行常温运输；收到细胞后请镜下观察细胞生长状态，如铺瓶率超过 85%请立即进行传代操作，如悬浮的细胞较多，请将培养瓶至于培养箱中静置过夜以帮助未死亡的悬浮细胞能够再次贴壁。

收到细胞后请拍照，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请及时拍照与我们联系。

【细胞接收后的处理】

收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。

请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10×，20×)各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

贴壁细胞：细胞在 37℃ 培养箱中放 2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下，可去除培养瓶中灌液培养基(若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中),加入新配制的完全培养基 6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80% 以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心后回收。

【注意事项】

- ✔ 充液培养基是维持培养基，不能用来培养细胞。
- ✔ 收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1:2 传代。
- ✔ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- ✔ 本产品仅供研究使用，不可用于人或动物的体外诊断与治疗。
- ✔ For laboratory use only. Not for diagnostic or therapeutic use.