小鼠原代角膜上皮细胞

产品说明书

货号 TS-CE-M0336

名称 小鼠原代角膜上皮细胞

规格 5*10^5

细胞介绍 Introduction to Cells

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。

细胞特性 Cell characteristics

1) 组织来源于实验动物的正常眼组织。

2) 细胞鉴定：广谱角蛋白(PCK)免疫荧光染色为阳性。

3) 经鉴定细胞纯度高于90%。

4) 不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌。

5) 细胞生长方式：上皮样，不规则细胞，贴壁培养。

推荐培养基 Preparation of culture medium and cryopreservation conditions

我们推荐使用小鼠原代角膜上皮细胞专用培养基（产品编号：TS-CC1866）作为体外培养小鼠原代角膜上皮细胞的培养基。

运输和保存 Transportation and storage

干冰运输及复苏好存活细胞

（1）1mL冻存管包装干冰运输，收到后-80度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，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，请立即与我们联系。

（2）T25瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

常温细胞收货当天处理方法

（1）观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，显微镜下观察细胞状态，去掉封口膜不开瓶盖，用75%酒精擦拭细胞瓶表面，直接将其置于细胞培养箱内静置培养2-4h;部分贴壁细胞会因运输从瓶壁脱落，可在静置后再次观察细胞贴壁情况。

（2）静置后可保留6-8ml培养基，将培养瓶内多余的完全培养基转移至50ml无菌离心管中，后续培养可以继续使用，转移多余培养基过程中注意瓶口消毒;

（3）上述操作后，细胞密度低于80%可继续培养，达到80%后，可参考细胞操作规程进行细胞传代或冻存;

（4）确认细胞状态良好后，应及时将细胞冻存或部分冻存，优先保存种子细胞，留种成功后，再进行后续的相关实验，避免后期实验失误或因细胞的污染或死亡而导致的种子细胞丢失。

冻存细胞收货当天处理方法

（1）开箱后核对细胞信息，过程中冻存管置于干冰中即可，不要让冻存细胞离开干冰;

（2）若收到细胞当天不复苏，请及时将细胞转移至液氮罐中，注意转移过程动作要迅速；

（3）若无液氮罐，请及时将细胞转移到-80°C冰箱中保存，尽量靠内放置，不要靠近冰箱门或壁边缘等温度不稳定区；

（4）如需要复苏，请提前准备好适合该细胞生长的培养基，请按细胞复苏流程操作，离心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;复苏的细胞不建议当天或者第二天换液，部分细胞贴壁时间长(48h左右)，若复苏有异常，请及时跟我们联系。

细胞处理 Cell processing

冻存细胞的复苏

将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻，加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。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°C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。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

①弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

②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。

③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。

下面T25瓶为例；

①细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1×10^6~1×10^7个活细胞/ml.

②1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml冻存液含1×10^6~1×10^7个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

③将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项 Precautions

1.收到细胞后，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，请立即与我们联系。

2.收到细胞先不开瓶盖，瓶身擦拭酒精后放在培养箱静置2-4小时（视细胞密度而定）稳定细胞状态。接着在倒置显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照（建议收细胞时就整体外观拍一张照片，观察培养基的颜色和是否有漏液情况，随后在显微镜下拍下细胞状态，100*，200*各一张），观察记录细胞在运输过程中是否有污染情况。作为我方进行销售依据。

3.由于细胞状态受环境、操作和运输等多方面因素影响，故本公司只保证客户收到细胞后一周内的细胞状态，故客户需要售后时需出示收到细胞的时间证明及客户提供收货时间和发现问题后客服人员沟通的时间证明，期间间隔时间不能大于7天。

4.所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。