

## 小鼠角膜基质细胞永生化

Immortalization of mouse corneal stromal cells

### 【产品货号】

货号：SB-MU2281

规格：T25 培养瓶或者 1 mL 冻存管包装

### 【储存条件】

T25瓶:观察好细胞状态后, 75 %酒精消毒T25瓶外壁, 将T25瓶置于37°C培养箱放置2-4 h, 以便稳定细胞状态后传单; 冻存管: 收到细胞后, 需立即转入液氮冻存或直接复苏

### 【细胞详情】

种属	小鼠
组织来源	正常眼组织
传代比例	1:2传代
完全培养基配置	基础培养基500 mL; 生长添加剂5 mL; 胎牛血清50 mL; 双抗5 mL
简介	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, 角膜基质为中层结缔组织, 完全透明, 角膜基质层中的主要细胞成分是角膜基质细胞, 它能合成和分泌纤维, 并且对胶原束的排列和平衡都起作用。
形态	长梭形细胞样, 不规则细胞样
生长特征	贴壁
细胞	波形蛋白 (Vimentin) 免疫荧光染色为阳性免疫荧光鉴定, 细胞纯度可达90%以上, 不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
倍增时间	每周 2 至 3 次
换液频率	2-3天换液一次
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37°C, 培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%,
备注	小鼠角膜基质细胞永生化细胞通过慢病毒转染的方式携带SV40基因。

### 【常温细胞收货当天处理方式】

- 1 收到常温细胞后, 及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
- 2 镜下观察有无微生物污染现象, 拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象, 方便后续售后处理。
- 3 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代, 请根据实际情况决定), 首次传代推荐比例 1: 2 到 1: 3 (按实际收货细胞密度决定, 若不确定可联系技术支持); 若细胞密度不到 80%则可继续培养, 注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖; 悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。

最新版本以官网为准

首次传代建议 1: 2 传代【1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6 cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10 cm 皿】

4 由于气温，运输等影响造成贴壁细胞漂浮的，请将细胞离心收集后再在离心管中消化后进行传代，或及时联系技术支持进行指导传代。

#### 【贴壁细胞传代】

- 1 从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃；
- 2 从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次；
- 3 从培养容器中吸出冲洗液并丢弃，向培养瓶中加入预热的胰酶；胰酶量应足以覆盖细胞层(T25为1ml)
- 4 将培养容器在室温下孵育约2分钟（请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差异）；
- 5 在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达90%，可将孵育时间延长几分钟，每30秒钟检查一次解离情况；
- 6 细胞解离程度大于等于90%时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；
- 7 将细胞转移到15 mL无菌离心管中，以200 × g的离心力离心3-5 分钟（请注意离心速度和时间依细胞种类不同而差异）；
- 8 用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱（注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖）。

#### 【悬浮细胞传代】

将T25培养瓶中的悬液收集至离心管中1000 rpm离心5 min，收集上清，加1-2 ml完全培养基重悬，按1:2比例进行比例传代分到新T25瓶中，补充5-8 ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养。

#### 【相关产品】

圣尔生物为您提供细胞培养实验相关产品！

产品编号	名称	包装
SB-C101	无血清/无蛋白细胞冻存液	100 mL/10 mL/50 mL
FSP500	Fetal Bovine Serum( Prime) 胎牛血清	500 mL
SB-CR011	青霉素-链霉素双抗 (100 × ) Penicillin-Streptomycin Solution	100 mL/500 mL
SB-R017	PBS (细胞培养级)	500 mL
SB-C002	高糖 DMEM	500 mL
SB-GN1110	基质胶 matrigel (标准型, 不含酚红)	5*1 mL
SB-CR013	胰酶(胰蛋白酶) (EDTA, 0.25 %) Trypsin-EDTA Solution	100 mL/500 mL
技术服务	细胞基因敲除/过表达服务	

本产品仅供科研使用。