

产品名称：小鼠角膜上皮细胞
产品货号：CYM1055



细胞背景介绍

小鼠角膜上皮细胞分离自眼组织；位于眼球壁前端 1/6 无血管的透明纤维膜称角膜。正常角膜高度透明，表面光滑，前凸后凹，形如凸凹透镜，边缘与巩膜似表壳相接。从后面看是圆形，从正前面看是横圆形，这是因为前面角膜的上下缘受巩膜和结膜的伸展被覆多于水平两侧之故。角膜分为角膜本部和角膜缘部。组织学上由前向后分五层：上皮细胞层、前弹性层、基质层、后弹性层和内皮细胞层。但在裂隙灯活体显微镜下可看到泪膜、上皮、前弹性层、基质、后弹性膜、内皮六层。

细胞分离方法简介

组织来源：眼组织

细胞质量检测

细胞经 PCK 免疫荧光鉴定，细胞纯度可达 90% 以上，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

细胞培养信息

细胞培养基	基础培养基、FBS、Penicillin、Streptomycin 等；
细胞生长特性	贴壁
细胞形态	上皮细胞样
细胞换液频率	每 2-3 天换液一次
细胞传代特性	可传 1-2 代
细胞传代比例	1:2
消化液	0.25% 胰蛋白酶
细胞培养条件	空气，95%；二氧化碳，5%；温度，37℃

小鼠角膜上皮细胞体外培养周期有限；建议使用本公司配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

细胞使用方法

小鼠角膜上皮细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈上皮细胞样，在本公司技术部标准操作流程下，小鼠角膜上皮细胞可传 1-2 代。建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原 I（2-5μg/cm²），多聚赖氨酸 PLL（0.1mg/ml），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

一、常温细胞收货后处理方法

- 收到常温细胞后，请先核对产品信息，并请仔细观察细胞瓶有无**漏液/瓶身破损**等现象，若有请拍照并及时和我们联系；
- 用 75% 酒精擦拭瓶身，显微镜下观察细胞生长状态，并**拍照/录像记录细胞密度形态**等情况；

产品名称：小鼠角膜上皮细胞
产品货号：CYM1055

3. 如没有发现污染等异常情况，完成观察之后，及时将细胞瓶放入培养箱中**静置 2-4 小时**，稳定和恢复细胞状态；
 - 贴壁半贴壁细胞请平放进行静置；
 - 悬浮细胞可以选择将培养瓶竖直放置培养。
4. 请阅读说明书，了解该细胞培养的相关信息（如培养基成分，细胞生长特性等重要信息），以方便后续细胞的处理及您实验的顺利进行！
5. 静置完成后，如无异常情况，可以进行常规操作：①细胞密度不足 80%可移除多余的培养基，细胞进行正常培养；②若细胞密度超过 80%，按照下述细胞传代步骤对细胞进行传代。
6. 温馨提示：细胞因沿途运输，温度变化或者晃动等而出现体积变小，或者一定量的漂浮等现象，属正常情况！

二、冻存细胞收货后处理方法

1. 收到干冰件后，请检查干冰是否已经完全挥发、冻存管瓶盖是否脱落破裂。如有上述情况请拍照后及时和我们联系；
2. 收到细胞后推荐直接复苏，如果不能直接复苏，可放入 -80 °C 冰箱或者液氮罐中保存，并尽快安排复苏；
3. 细胞复苏可参考下述细胞复苏操作方法。

三、常规操作步骤

1. 细胞复苏：

- 1) 预热水浴锅至 37 °C，打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
- 2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
- 3) 从液氮中取出正确的细胞冻存管，快速放入 37 °C 水浴锅中（如果水浴锅水洁净度不好，可以将冻存管放入 EP 手套中再放入水浴锅），确保冻存管液面全部浸至水浴锅水面以下，轻摇冻存管使冻存液融化；
- 4) 融化后，酒精擦拭冻存管外壁，并转移到生物安全柜中，把细胞悬液转移到含有 5 ml 培养基的离心管中（常用 15 ml 的离心管），做标记并离心收集细胞，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min；
- 5) 移除上清，加入新鲜的完全培养基，轻柔吹打重悬细胞，然后将细胞悬液接种到合适的培养瓶或者培养皿中，并做好标记，37 °C、5% CO₂ 的培养箱进行培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2. 细胞传代（以 T25 瓶为例）：

贴壁细胞传代

细胞汇合度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
- 2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等。
- 3) 移除原培养液，并用 PBS 漂洗细胞 1-2 次，漂洗时，PBS 完全覆盖细胞，并轻轻晃动培养瓶或者皿，使 PBS 充分接触细胞并进行润洗；
- 4) 润洗完成之后，移除 PBS，加入适量的可以覆盖细胞的 0.25% 胰蛋白酶消化液，轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；

产品名称：小鼠角膜上皮细胞
产品货号：CYM1055

- 5) 置于 37 °C 培养箱进行消化，消化时间因细胞而异（通常 1-3 分钟不等），具体判断以显微镜下看到细胞明显变圆并开始脱落，则终止消化；
- 6) 加入 3-5 ml 完全培养基终止消化，轻轻吹打使细胞脱落，制成单细胞悬液；
- 7) 将细胞悬液转移至离心管中，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min，观察管底有细胞沉淀之后，弃去上清液；
- 8) 加入 5 ml 新鲜完全培养基重悬细胞，将细胞悬液按量按需转移到对应的培养瓶或者皿中，补足培养基、做好标记、进行继续培养，传代比例参考细胞说明书。

温馨提示：

- ①刚复苏的细胞系一般建议传代 2-3 次，细胞形态、活率稳定之后再开展后续实验研究。
- ②如果实验需要计算细胞存活率，可以选择台盼蓝染色计算细胞存活率（RC0166）。

悬浮细胞传代

半换液传代

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
- 2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
- 3) 半换法传代时，可直接向培养瓶中添加等体积的新鲜培养液，然后将悬浮细胞轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中，做好标记进行培养。

全换液传代

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
- 2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
- 3) 轻柔吹散细胞团，收集所有培养液至离心管中，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min，弃去上清液；
- 4) 加入新鲜的培养基，轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中，做好标记进行正常培养。

3. 细胞冻存：

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
- 2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、冻存液等；
- 3) 配置冻存液：冻存液配方可以选择 90% FBS+10% DMSO 或者 95% 完全培养基+5% DMSO，特殊配方请参见细胞说明书；
- 4) 当细胞密度达到 80%以上，按照细胞传代的方式制备细胞悬液，离心收集细胞沉淀，在生物安全柜中，加入适量的冻存液(建议冻存细胞密度为 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ /ml)，每管冻存体积建议 0.5-1 ml，冻存管做好标记之后放入程序冻存盒中，放入 -80 °C 冰箱过夜，次日转入液氮管进行长期保存。

发表[中文论文]请标注：(CYM1055) 由武汉恩玖生命科技有限公司提供；

发表[英文论文]请标注：(CYM1055) were obtained from Wuhan EnkiLife Biotech Co., Ltd.

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考。

(后附售后说明)

产品名称：小鼠角膜上皮细胞
产品货号：CYM1055



细胞售后条例

一、细胞出现问题，可重发的情况有哪些？判定标准是什么？

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发；
2. 细胞污染问题，请在收到产品 3 天内，给我们提出真实的实验结果，核实后重发；
3. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后 2 天后，绝大多数细胞未存活，（需提供真实清晰的细胞状态照片），重发；
4. 细胞活性问题，请在收到产品 5 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，和每天的细胞照片，核实后予重发；
5. 细胞收到当天以及第 2，3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题有提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。技术人员判定为双方承担责任的由双方进行协商处理或者按合同价的 50% 收费重发。

二、细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

1. 客户操作造成细胞污染，不重发；
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发；
3. 非我们推荐细胞培养体系所致的细胞状态不好，不重发；
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；
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发；
6. 收到细胞并发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 7 天的，不重发；
7. 视具体情况而定。

三、细胞准确性

细胞出货时附带鉴定报告（细胞系随货提供纸质报告，原代细胞发货后 10 天内提供），如果客户对细胞的种类、纯度等特性有疑问，需在收到细胞后 15 天内提供相应的生物学实验检测结果作为依据，经供应商技术确定细胞确实有问题的，可进行相应处理，但只对细胞本身负责，不对客户进行其他补偿。

产品名称: 小鼠角膜上皮细胞
产品货号: CYM1055



EnkiLife 优势产品推荐

产品类别	产品货号	产品名称
WB 解决方案	RA10020	2h 极速 WB 即用型全流程试剂盒
	RA10021	4h 快速 WB 即用型全流程试剂盒
	RA10042	5h 畅享版 WB 全流程试剂盒
	RA10037	校准级彩色预染蛋白 Marker (8-180kDa)
	RA10038	校准级彩色预染蛋白 Marker (10-250kDa)
	RA10039	校准级高分子彩色预染蛋白 Marker (25-400kDa)
TSA 多重荧光染色试剂盒	RA10008	TSA 双标三色多重荧光染色试剂盒 (mIHC)
	RA10009	TSA 三标四色多重荧光染色试剂盒 (mIHC)
	RA10010	TSA 四标五色多重荧光染色试剂盒 (mIHC)
	RA10011	TSA 五标六色多重荧光染色试剂盒 (mIHC)
	RA10012	TSA 六标七色多重荧光染色试剂盒 (mIHC)
IHC 检测试剂盒	RA10006	HRP Anti-Mouse/Rabbit IHC Detection System
	RA10007	Polymer-HRP Anti-Mouse/Rabbit IHC Detection System
抗体标记试剂盒	RE80004p	辣根过氧化物酶(HRP)抗体标记试剂盒
	RE80002q	Sulfo-NHS-生物素标记试剂盒
	RE80007p	Cy3 荧光素标记试剂盒
	RE80011p	Fluor488 荧光素标记试剂盒
	RE80017p	Fluor750 荧光素标记试剂盒
	RE80005p	藻红蛋白(R-PE) 抗体快速标记试剂盒
	RE80040	PE-Cy7 串联染料抗体快速标记试剂盒
稳转细胞系构建服务 (免费赠送全膜 WB 验证)	TS-0001	过表达稳转细胞系构建
	TS-0002	敲低稳转细胞系构建
	TS-0003	敲除细胞系构建

限于篇幅, 更多产品详见官网: <https://www.enkilife.cn>