产 品 说 明 书

原代人无色素睫状上皮细胞

说明书

名　称:	原代人无色素睫状上皮细胞
货　号:	PRI-H-00149
描　述:	人无色素睫状上皮细胞取自于人睫状体组织，睫状上皮细胞位于睫状突的折叠处。由结构、功能都截然不同的两层细胞组成。含色素的睫状上皮细胞的基底膜面向基质，不含色素的睫状上皮细胞的基底膜邻近房水。它们将溶解物从睫状突基质转移到后房，形成的渗透梯度使水从基质流向眼房水。只有不含色素的睫状上皮细胞形成完全的渗透屏障，它们与邻近细胞紧密连接。
种　属:	人
组织来源:	睫状体组织
形　态:	上皮细胞样
培养特性:	贴 壁
安全性:	所有肿瘤和病毒转染的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

中乔新舟

【培养须知&重点】

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com

【公司官网】【公众号】

如自行配置其他完全培养基进行复苏、培养、传代、可能会导致细胞复苏不贴壁，细胞增殖慢，形态改变，倍增次数减少等情况，我司将不负责此类问题的售后，请熟知。

传代比例指的是同等大小容器的前提下，如需更换培养容器，则需换算培养容器贴 壁面积，例如一个 T25 瓶的贴壁面积相当于 1 个 6cm 的皿，1 个 10cm 的皿的贴壁面积 相当于 2.5 个 T25 瓶，1 个 T75 瓶的贴壁面积相当于 3 个 T25 瓶。

贴壁的原代细胞在复苏时或者消化后转移至新容器需要对新的培养器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，包被条件常选用重组人纤连蛋白（终浓度 2μg/cm²），鼠尾胶原Ⅰ（2-5μg /cm²），多聚赖氨酸 PLL（0.1 mg/mL），明胶（0.1%），具体根据细胞种类来选择，悬浮/半悬浮细胞无需包被。

【培养试剂&培养条件】

推荐专用培养基:	原代人无色素睫状上皮细胞完全培养基 **500ml 包装规格：基础和添加剂单独包装，使用可查阅培养基说明书。**
推荐胰酶货号:	**CSP048**
推荐冻存液货号:	**CSP169（含血清）**
推荐终止液货号:	**CSP138/或自配含 10%FBS 其它培养基 注意：完培不可用于终止。培养基为无血清配方 不可用于终止消化。**
传代比例	**1：2**
换液频率	**2-3 次/周**
培养条件:	**95%空气，5%二氧化碳；37℃**

中乔新舟

【收货当天操作指南】

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com

【公司官网】【公众号】

产 品 说 明 书

一、运输方式：

干冰运输：1mL 冻存管干冰运输，及时拍照记录有无管壁破损现象，完好立即转入-80 度冰箱保存过夜，再转入液氮保存或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损，请立即与我们联系。

T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象，用 70%酒精消毒细胞培养瓶各个表面后，满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作；悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置，贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置，在此期间，请查看说明书以确定细胞属性。请拍 4X、10X、 20X 各 2-3 张照片作为售后时收到时细胞状态的依据。

1.1.细胞密度为 80%左右时需传代。

1.2.细胞密度小于 70%且无细胞脱落情况下，吸除全部培养基，瓶内加入 5 毫升新鲜培养液，继续培养。(灌装培养基是完全培养基可以直接保留 5ml 继续培养）。

二、传代培养：

细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：

1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；

2. 将 Trypsin-EDTA.(0.05%)、 细胞完全培养基、**终止液/含 10%FBS 其它培养基**（用于终止液）置于室温平衡 。

备注：用 0.05%的胰酶消化是为了最大限度的减少对细胞的损伤。如果一定要用 0.25%的胰酶消化，注意要每过 1 分钟观察细胞，细胞即将脱落时终止消化，以免消化过度。

3. 弃去培养瓶中培养基，用 5ml 无钙镁离子 PBS 缓冲液（中乔新舟 货 号 ： ZQ-1300） 清洗细胞层，尽量去除液体后加入 1ml 的 0.05%胰酶消化液 37℃消化 1~3min 至细胞变圆（建议每隔 1min 在显微镜下观察细胞的消化情况），用手轻拍瓶尾成流沙样脱落 ；脱落率约 80%。

4.此时,立即加入 3-5ml **终止液/**其他完培培养基（含 10%血清）终止消化,轻柔吹打瓶内 3-6 下,将细胞悬液转移到 15ml 离心管,约 200g(1000-1200rpm)室温离心 5min ;

中乔新舟

备注：培养基为无血清配方 不可用于终止消化。

5.弃上清 ，用手指弹松细胞沉淀，加入新鲜完全培养基后视推荐传代比例(首次建议 1：2 传代)和细胞计数后进行接种若干新的 T25 培养瓶中；培养基 t25 添加 5-7ml；

6.每 2 天更换一次培养基。

三、冻管细胞复苏

1、提前室温细胞完全培养基。

2、准备一个培养瓶 ，添加 5ml 室温平衡完全培养基 ，同时准备一个 15mL 离心管,添加 5ml 含 10%血清的其他培养基（用于离心） 。

3、将冻存管快速在 37℃水浴槽中解冻细胞 ，至细胞完全融化（请在 1-2 分钟内完成）

4、立即取出冻存管 ，75%乙醇擦拭消毒冻存管表面 ，转移至生物安全柜 ，将细胞悬液加入到提前准备好的离心管里。

5、在室温 ，200g (1000-1200rpm)离心 5min。

6、弃去上清 ，用手指弹松细胞沉淀 ，添加 2ml 完全培养基重新悬浮细胞后 ，接种至 1 个 T25 培养瓶中，培养瓶中总共完培 5-7ml 。“ 画 8 字法 ” 使细胞均匀分布。

7、在 37℃ 、5% CO2 和 95%空气条件下进行细胞培养 ，透气瓶可直接放入培养箱，非透气请拧松放入培养箱。

8、在复苏后第二天 16h 后可观察贴壁情况 ，有少量漂浮可以不用换液 ，约 2-4 天可进行传代。

四、细胞冻存步骤：

1.细胞密度 80%以上，活细胞百分率达 95%以上时，将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存。

2.细胞沉淀用适量**通用含血清型程序冻存液**（货号：CSP169）重悬， 建议一瓶 T25 细胞冻存一管（1ml/管），然后将分装好的细胞冻存管进行程序性降温冻存，冻存细胞降温程序（2-8℃，放置 40min;-20℃,放置 30min-60min,-80℃放置一天后转移至液氮保存）或使用程序降温盒降温后，再转至液氮罐中长期保存。

中乔新舟

中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在 SCI 期刊发表文献，且在文献中标注产品来源于**“Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”**或**“ZQXZbio”**，且标注相应**产品名称及货号**，均可参与活动。自 2024 年 1 月 1 日起，中乔新舟文献奖励按照如下规则进行：

文献引用奖励

	影响因子	奖励
SCI 期刊杂志	1≤IF＜5 分	1000 积分
	5≤IF＜10 分	2000 积分
	10≤IF＜15 分	3000 积分
	15≤IF＜25 分	6000 积分
	IF≥25 分	8000 积分
备注：积分可用于积分商城礼品兑换，1000 积分等同于 100 元实物礼品。		

活动说明：

1. 申请人文献已发表，且为第一作者或第一通讯作者；
2. 文献发表于 2022 年 7 月 1 日后；
3. 提供文献全文（PDF 格式）提供的实验数据、图片、文献等相关信息可在我司官网、微信公众号等推广渠道发布做展示使用；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子（IF）以申请奖励时为准；
6. 本活动最终解释权归上海中乔新舟生物科技有限公司所有。

奖励申请流程：

1. 关注中乔新舟公众号，发送“文献奖励申请表格”即可。
2. 完整填写申请表格，审核无误后，经公司审核通过后，我们将在 10 个工作日内与申请人联系并发放积分；
3. 如有疑问，发送邮箱即可联系我们 jw@zqxzbio.com。
4. 关注中乔新舟公众号---点击关于我们---点击文献奖励即可了解信息。

中乔新舟

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com

【公司官网】【公众号】