

大鼠视网膜色素上皮细胞

Cat NO.: CP-R116

一、产品简介

1. **产品名称：**大鼠视网膜色素上皮细胞

2. **组织来源：**视网膜组织

3. **细胞简介：**

大鼠视网膜色素上皮细胞分离自视网膜组织；视网膜居于眼球壁的内层，是一层透明的薄膜。视网膜由色素上皮层和视网膜感觉层组成，两层间在病理情况下可分开，称为视网膜脱离。色素上皮层与脉络膜紧密相连，由色素上皮细胞组成，它们具有支持和营养光感受器细胞、遮光、散热以及再生和修复等作用。组织学上视网膜分为10层，由外向内分别为：色素上皮层、视锥、视杆细胞层、外界膜、外颗粒层、外丛状层、内颗粒层、内丛状层、神经节细胞层、神经纤维层、内界膜。视网膜内层为衬于血管膜内面的一层薄膜，有感光作用；后部鼻侧有一视神经乳头。视网膜上的感觉层是由三个神经元组成。第一神经元是视细胞层，专司感光，它包括锥细胞和杆细胞。视杆细胞主要在离中心凹较远的视网膜上，而视锥细胞则在中心凹处最多。第二层叫双节细胞，约有10到数百个视细胞通过双节细胞与一个神经节细胞相联系，负责联络作用。第三层叫节细胞层，专管传导。视网膜是一层菲薄的但又非常复杂的结构，它贴于眼球的后壁部，传递来自视网膜感受器冲动的神经纤维跨越视网膜表面，经由视神经到达出口。视网膜的分辨力是不均匀的，在黄斑区，其分辨能力最强。视网膜色素上皮(RPE)位于脉络膜和光感受器细胞外节之间，是视网膜下腔和脉络膜血管之间的离子、水、营养物质和代谢终产物转运通道；主要是由单层色素上皮细胞所构成，排列十分规则。视网膜色素上皮参与视黄醇循环，吞噬脱落的光感受器细胞外节以维持光感受器细胞兴奋性，并分泌多种生长因子，帮助维持脉络膜血管内皮细胞和光感受器细胞的结构完整性。细胞呈多角形，细胞分为三部分，即顶部、体部和基底部。视网膜色素上皮细胞无再生能力，细胞死亡后不被替换，而是邻近的细胞向侧面滑动，以填补死亡细胞遗留下来的空间。视网膜色素上皮位于脉络膜和光感受器细胞外节之间，是视网膜下腔和脉络膜血管之间的离子、水、营养物质和代谢终产物转运通道。视网膜色素上皮参与视黄醇循环，吞噬脱落的光感受器细胞外节以维持光感受器细胞兴奋性，并分泌多种生长因子，帮助维持脉络膜血管内皮细胞和光感受器细胞的结构完整性。

4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠视网膜色素上皮细胞采用胰蛋白酶-胶原酶混合消化法结合差速贴壁法，并通过上皮细胞专用培养基培养筛选制备而来，细胞总量约为 5×10^5 cells/瓶。

5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的大鼠视网膜色素上皮细胞经PCK免疫荧光鉴定，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。

6. 培养信息：

包被条件	鼠尾胶原 I (2-5 μ g/cm ²)
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-R116
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	上皮细胞样
传代特性	可传1-2代
传代比例	1:2
消化液	Accutase消化液或0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO ₂ ，5%

大鼠视网膜色素上皮细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛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。

二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

三、使用方法

大鼠视网膜色素上皮细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈上皮细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传1-2代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37°C、5%CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。

2. 贴壁细胞消化

- 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次。
- 2-1) 建议优先使用Accutase™消化液0.8-1mL至培养瓶中，均匀覆盖底部细胞，室温条件下消化5min。消化5min观察细胞是否有收缩、出现少量细胞从瓶底滑落，若有细胞滑落，就轻敲瓶身，使大部分细胞脱落；若无细胞滑落，就适当延长消化时间5-10min内，轻敲瓶身使大部分细胞脱落。根据细胞消化情况，若有较多残留可再消化收集。该细胞可累计消化15-20min，轻柔至中等力度吹打。
- 2-2) 若无Accutase™消化液，添加0.25%胰蛋白酶消化液1mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37°C温浴3-5min；倒置显微镜下观察，待细胞收缩、出现少量细胞从瓶底滑落，轻敲瓶身，使大部分细胞脱落。根据细胞消化情况，若有较多残留可再消化收集2-3次。
- 3) 加入5mL完全培养基终止消化，用吸管轻轻吹打混匀，收集细胞悬液，经1200rpm离心5



min, 弃上清, 收集细胞沉淀; 使用完全培养基重悬细胞, 按传代比例接种T25培养瓶传代, 然后补充新鲜的完全培养基至5mL, 置于37°C、5%CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养。

4) 待细胞完全贴壁后, 培养观察, 用于实验; 之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

3. 细胞实验

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 (2-5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), 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。

四、注意事项

1. 培养基于4°C条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中, 请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 便于和普诺赛技术部沟通; 由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时和我们联系, 详尽告知细胞的具体情况, 以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

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

