

## 人视网膜上皮细胞(ARPE-19)

### 细胞介绍

该细胞系源自于一名 19 岁车祸罹难的健康男性的视网膜组织，由 Amy Aotaki-Keen 建系于 1986 年。该细胞系表达视网膜色素细胞特有的分子标记如胞内视黄醛结合蛋白和 PRE-65。

### 细胞特性

- 1) 来源：视网膜
- 2) 形态：上皮细胞样
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存：**可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：（1）干冰运输，收到后立即转入液氮冻存或直接复苏；（2）存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

**细胞用途：**仅供科研使用。

### 细胞培养步骤

#### 1) 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 DMEM/F12 培养基(DMEM/F12, GIBCO, 货号 10565-042);北美胎牛血清, 10%;双抗 1%。
2. 培养条件：气相：空气, 95%;二氧化碳, 5%。温度：37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。
3. 冻存液：90%血清, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

#### 2) 细胞处理：

**1. 复苏细胞：**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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

**2. 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，**传代可参考以下方法：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。力口 2m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37° C 培养箱中消化 1-2 分钟，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少量培养基终止消化。按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1:2 到 1:5 的



比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

**细胞冻存：**待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

**下面 T25 瓶为例；**

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

**注意事项：**

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。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。