

绵羊小肠上皮细胞永生化

一、细胞简介

细胞简介	小肠位于腹中，上端接 幽门 与胃相通，下端通过阑门与大肠相连。小肠与心互为表里。是食物消化吸收的主要场所，盘曲于腹腔内，上连胃幽门，下接 直肠 ，全长约5—6米，张开有半个篮球大，分为十二指肠、空肠和回肠三部分。其管壁由黏膜，黏膜下层，肌层和浆膜构成。其结构特点是管壁有环形皱襞，黏膜有许多绒毛，绒毛根部的上皮下陷至固有层，形成管状的肠腺，其开口位于绒毛根部之间。绒毛和肠腺与小肠的消化和吸收功能关系密切。 该细胞通过慢病毒转染的方式携带SV40基因。抗性是嘌呤霉素。			
细胞名称	绵羊小肠上皮细胞永生化			
细胞别称	Immortalization of sheep small intestinal mucosal epithelial cells			
细胞货号	Delf-27166			
来源	绵羊；小肠			
细胞形态	铺路石状细胞，不规则细胞，贴壁培养			
生长特性	贴壁生长			
培养条件	推荐使用山羊支气管上皮细胞永生化专用培养基（货号：Delf-27167）培养该细胞。			
	名称	体积	浓度	保存条件
	山羊支气管上皮细胞永生化基础培养基	460ml	1×	4℃、避光
	山羊支气管上皮细胞永生化培养添加剂	5ml	100×	-20℃、避光
	胎牛血清（FBS）	30ml	终浓度 6%	-20℃、避光
	双抗（青霉素/链霉素，P/S）	5ml	100×	-20℃、避光
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，培养箱湿度为70%–80%。			

二、细胞复苏方法

复苏步骤	1、将冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻； 2、加入到含4ml常规培养基（含10%FBS）的离心管中混合均匀； 3、在1000RPM条件下离心5min，弃去上清液， 完全培养基 重悬细胞； 4、将细胞悬液加入含6–8ml完全培养基的T25培养瓶（或6cm皿）中37℃培养箱培养；
------	--

三、细胞传代方法

传代比例	1:2（具体情况视细胞生长速度及密度决定）
------	-----------------------

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基； 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次，吸走润洗的 PBS； 3、加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)； 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 2min 左右 (不同胰酶，消化时间不同，要根据细胞脱落情况，在进行终止消化)； 5、轻轻侧拍 T25 培养瓶镜下观察，消化到细胞脱落在胰酶当中后，加入 2-3ml 含 10%FBS 的常规培养基终止消化； 6、1000rpm 离心 5min，收集到 15ml 离心管中加 2ml 该细胞完全培养基，重悬细胞时，在离心管中轻轻吹打，把细胞混匀； 7、按 1:2 分配到新的 T25 培养瓶中，添加 4-5ml 完全培养基放回 37℃ 培养箱；
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程

四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用原代细胞无血清冻存液 Delf-11614 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；

五、注意事项

注意事项	1、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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

