

## 人原代角膜基质细胞

Cat No.:JY-J2007

### Description

种属	人
组织来源	正常眼组织
传代比例	1:2传代
完全培养基配置	基础培养基500ml; 生长添加剂5ml; 胎牛血清50ml; 双抗5ml
简介	角膜位于眼球前壁的一层透明膜, 约占纤维膜的前1/6, 从后面看角膜呈正圆形, 从前面看为横椭圆形。角膜厚度各部分不同, 中央部最薄。角膜分为五层, 由前向后依次为: 上皮细胞层、前弹力层、基质层、后弹力层、内皮细胞层, 角膜基质为中层结缔组织, 完全透明, 角膜基质层中的主要细胞成分是角膜基质细胞, 它能合成和分泌纤维, 并且对胶原束的排列和平衡都起作用。
形态	长梭形细胞样, 不规则细胞样
生长特征	贴壁生长
细胞检测	波形蛋白 (Vimentin) 免疫荧光染色为阳性免疫荧光鉴定, 细胞纯度可达90%以上, 不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
倍增时间	每周 2 至 3 次
换液频率	2-3天换液一次
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%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%, 或使用非程序冻存液: 官网货号JY-H040
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

### 细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止2-3小时稳定 细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

# 常温细胞收货当天处理方式

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 镜下观察有无微生物污染现象，拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象，方便后续售后处理。
3. 消毒后，更换赠送的完全培养液放置培养箱静止2-3小时。如细胞有少数悬浮细胞需要离心收集重新接种至培养瓶。
4. 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代，请根据实际情况决定)，首次传代推荐比例 1: 2 到 1: 3 (按实际收货细胞密度决定，若不确定 可联系技术支持)；若细胞密度不到 80%则可继续培养，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖；悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。
5. 由于气温，运输等影响造成贴壁细胞漂浮的，请将细胞离心收集后在离心管中消化后进行传代 (参考附件)，或及时联系技术支持进行指导传代。

**贴壁细胞传代：**1. 从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃；

2. 从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次

3. 从培养容器中吸出冲洗液并丢弃，向培养瓶中加入预热的胰酶；胰酶量应足以覆盖细胞层 (T25为1ml)；

4. 将培养容器在室温下孵育约 2分钟 (请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差异)；

5. 在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达 90%，可将孵育时间延长几分钟，每 30 秒钟检查一次解离情况；

6. 细胞解离程度大于等于 90%时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；

7. 将细胞转移到15mL 无菌离心管中，以  $200\times g$  的离心力离心 3-5 分钟 (请注意离心速度和时间依细胞种类不同而有所差异)；

8. 用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱 (注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖)。

**悬浮细胞传代：**将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 5min，收集上清，加 1-2ml 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行比例传代分到新T25瓶中，补充5-8ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养。