人角膜基质细胞说明书

Catalog：CTCC-131HC

一．产品简介

1、产品名称：人角膜基质细胞

2、组织来源：角膜组织

3、产品规格：25cm^2 培养瓶/5×10^{5}cells

4、细胞简介：

人角膜基质细胞分离自角膜组织；角膜位于眼球壁前端 1/6 无血管的透明纤维膜称角膜。正常角膜高度透明，表面光滑，前凸后凹，形如凸凹透镜，边缘与巩膜似表壳相接。从后面看是圆形，从正前面看是横圆形，这是因为前面角膜的上下缘受巩膜和结膜的伸展被覆多于水平两侧之故。角膜分为角膜本部和角膜缘部。组织学上由前向后分五层：上皮细胞层、前弹性层、基质层、后弹性层和内皮细胞层。角膜基质层是构成角膜的重要一层，占角膜厚度的大部分，由胶原纤维组成，结构致密透明，保障光学进入眼睛。

本公司生产的人角膜基质细胞采用混合酶消化而来，细胞总量约为 5×10^5 个/瓶；细胞经 Vimentin 免疫荧光鉴定，细胞纯度可达 90%以上，且不含有 HIV-1、 HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

5、培养基信息：

培养基内容：基础培养基、FBS、Penicillin、Streptomycin 等；

为保证细胞体外培养最佳状态我们推荐使用人角膜基质细胞专用培养基作为体外培养人角膜基质细胞专用培养基。

二．细胞发货及鉴定图片

（1）细胞状态照片：细胞发货时发送至少 3 张细胞发货前白光电子照片；

（2）细胞鉴定照片：提供一套带 logo 的鉴定图片（不能用于发表文章）；若要用于文章发表或多套使用，需额外增加鉴定费用，提供 3 套鉴定图片；

三．使用方法

在技术部标准操作流程下，人角膜基质细胞可传 3-5 代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

一、客户收到细胞操作如下

1. 取出 25cm^2 培养瓶，75%酒精消毒，拆下封口膜，放入 37℃，5%CO2 细胞培养箱中静置 3-4h，以稳定细胞状态；
2. 观察细胞生长情况，细胞密度低于 80%时，贴壁细胞倒去瓶中培养液，留下 8ml 作用继续培养；细胞密度大于 80%时，即可进行传代；
3. 吸出 25cm^2 培养瓶中的培养基，用 PBS 洗涤 3 次；
4. 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，37℃温浴 2-3min 左右；倒置显微镜下观察**细胞回缩变圆，透亮时即可终止消化**，加入双倍完全培养液轻轻吹打细胞使其变成单细胞悬液；
5. 收集细胞悬液至离心管内，1000rpm 离心 5min，观察细胞沉淀；
6. 加入 1ml 的完全培养液，轻轻吹打成单细胞悬液，均匀分配至细胞培养瓶中，初次传代建议按照 1：2 比例进行
7. 待细胞完全贴壁后，培养观察。之后每隔 2-3 天更换新鲜的完全培养基。

二、细胞冻存管复苏

1. 提前室温预热培养基，将水浴锅调至 37℃；
2. 在超净工作台内提前准备好 15ml 离心管，并加入 5ml 的完全培养基；
3. 将冻存管快速放入水浴锅中，不断晃动冻存管，直至管内冰块全部融化
4. 然后快速取出，喷洒酒精，转移至超净工作台；
5. 拧开冻存管螺纹盖，用移液枪将细胞悬液轻轻吸出，转移至含 5ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
6. 离心结束后，观察有无细胞沉淀，将上清弃去，加入 1ml 新鲜的完全培养基，用移液枪轻轻吹打成细胞悬液；将细胞悬液转移至 T25 培养瓶中，T25 培养瓶建议培养基加入量 5-7ml，轻轻晃动培养瓶使细胞分散均匀，置于培养箱中培养。

三、细胞冻存

1. 冻存条件：55% 基础培养基+40%FBS+5%DMSO 或者无血清冻存液
2. 保存条件：液氮存储

四、注意事项

1. 培养基于4℃条件下可保存3-6个月；
2. **细胞收到操作注意事项，请参考《细胞操作指导》**
3. **细胞售后政策，请参考《原代细胞售后告知书》**

由于使用所用试剂、操作环境、操作手法不同，以上仅供各实验室参考！