

## 人角膜上皮细胞

Cat NO.: CP-H128

### 一、产品简介

1. 产品名称：人角膜上皮细胞
2. 组织来源：眼角膜组织
3. 细胞简介：

人角膜上皮细胞分离自眼角膜组织；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。角膜厚度各部分不尽相同，中央部最薄。角膜有十分敏感的神经末梢，如有外物接触角膜，眼睑便会不由自主地合上以保护眼睛。为了保持透明，角膜并没有血管，透过外界空气、泪液及房水获取养份及氧气。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。其主要功能如下：角膜是唯一的无血管的组织，具有透明的特性和合成许多蛋白的功能，分三层细胞层，外层即是上皮细胞；角膜上皮细胞能参与先天性免疫，能感应病原体存在并发出信号从而激活角膜防御系统；角膜上皮细胞能高效表达醛脱氢酶。角膜上皮细胞的体外培养对研究角膜的生理学、病理学、免疫学以及分子生物学都是极为重要的手段，常用于研究细胞代谢产物、病毒感染、各种生长因子和药物对细胞生长的影响。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人角膜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 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的人角膜上皮细胞经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 (2-5 $\mu$ g/cm <sup>2</sup> )
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H128
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2-3代
传代比例	1:2
消化液	0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

人角膜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

人角膜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2-3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℃、5%CO<sub>2</sub>、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) 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℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；

3) 用吸管轻轻吹打混匀，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℃、5%CO<sub>2</sub>、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（2-5 μg/cm<sup>2</sup>），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℃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

