

## 人角膜成纤维细胞

Cat NO.: CP-H131

### 一、产品简介

1. 产品名称：人角膜成纤维细胞
2. 组织来源：眼角膜组织
3. 细胞简介：

人角膜成纤维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。成纤维细胞(Fibroblast)是疏松结缔组织的主要细胞成分，由胚胎时期的间充质细胞分化而来。成纤维细胞较大，轮廓清楚，多为突起的纺锤形或星形的扁平状结构，其细胞核呈规则的卵圆形，核仁大而明显。成纤维细胞功能活动旺盛，细胞质嗜弱碱性，具明显的蛋白质合成和分泌活动，在一定条件下，它可以实现跟纤维细胞的互相转化；成纤维细胞对不同程度的细胞变性、坏死和组织缺损的修复有着十分重要的作用。刚分离的角膜成纤维细胞呈圆形、折光性良好，悬浮于培养基中。30min细胞贴壁，其中部分开始伸出伪足，表现为小的突起；6h后细胞基本贴壁完全，伸展成梭形，胞核清晰，分布较均匀，散在生长，不聚集成团；细胞生长迅速，5-7天即呈融合状态，细胞排列紧密，有的交叉重叠生长，平坦、胞体较大，细胞质透明，细胞核较大，呈椭圆形，颜色淡。细胞融合，并彼此连接成网状；细胞呈突起的纺锤形或星形的扁平分布。角膜成纤维细胞在生理条件下的主要功能包括：构造和维持角膜的正常形态，合成和释放细胞外基质以及组织损伤后及时大量聚集修复损伤组织。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人角膜成纤维细胞采用胰蛋白酶 - 胶原酶混合消化法结合差速贴壁法制备而来，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成纤维细胞经Vimentin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：

培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H131
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	成纤维细胞样



传代特性	可传5代左右；3代以内状态最佳
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%

人角膜成纤维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

人角膜成纤维细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈成纤维细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传5代左右；3代以内状态最佳；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的操作。

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，详尽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

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

