

原代人视网膜微血管内皮细胞

产品名称：原代人视网膜微血管内皮细胞

细胞特性：人视网膜微血管内皮细胞分离自视网膜组织；视网膜居于眼球壁的内层，是一层透明的薄膜。视网膜由色素上皮层和视网膜感觉层组成，两层间在病理情况下可分开，称为视网膜脱离。色素上皮层与脉络膜紧密相连，由色素上皮细胞组成，它们具有支持和营养光感受器细胞、遮光、散热以及再生和修复等作用。组织学上视网膜分为 10 层，由外向内分别为：色素上皮层、视锥、视杆细胞层、外界膜、外颗粒层、外丛状层、内颗粒层、内丛状层、神经节细胞层、神经纤维层、内界膜。视网膜内层为衬于血管膜内面的一层薄膜，有感光作用；后部鼻侧有一视神经乳头。视网膜上的感觉层是由三个神经元组成。第一神经元是视细胞层，专司感光，它包括锥细胞和杆细胞。视杆细胞主要在离中心凹较远的视网膜上，而视锥细胞则在中心凹处最多。第二层叫双节细胞，约有 10 到数百个视细胞通过双节细胞与一个神经节细胞相联系，负责联络作用。第三层叫节细胞层，专管传导。视网膜是一层菲薄的但又非常复杂的结构，它贴于眼球的后壁部，传递来自视网膜感受器冲动的神经纤维跨越视网膜表面，经由视神经到达出口。视网膜的分辨力是不均匀的，在黄斑区，其分辨能力最强。它是组成血管腔面单层扁平上皮样细胞，它所产生和分泌的生物活性物质对维持血管张力、调节血压、抗血栓形成等有重要作用，在视网膜血管疾病的发病机制中有重要病理生理学意义。由于从不同的组织和器官获得的内皮细胞具有不同的特性，在脑和视网膜中，这些内皮细胞具有内屏障的功能，在调节血管生理状态，释放血管活性物质以及新生血管的形成中发挥着重要作用，体外分离培养 RCEC 对研究视网膜血管性疾病发生发展的病理生理机制以及疾病的早期防治具有重要临床意义。

种属：人**年龄（周龄）：**未知**组织来源：**视网膜组织**生长特性：**贴壁**细胞形态：**内皮细胞样**细胞类型：**原代细胞**生长培养基：**原代细胞专用培养基，含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等**推荐传代比例：**未知**推荐换液频率：**每 2-3 天换液一次**传代次数：**可传 2-3 代

冻存条件：冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮**培养条件：**气相：空气，95%；CO₂，5% 温度：37℃**细胞用途：**仅供科研使用**注意事项：**建议用多聚赖氨酸 PLL（0.1mg/ml）或明胶（0.1%）对接种培养皿包被处理

常温细胞收货当天处理方法

1. 观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，显微镜下观察细胞状态，去掉封口膜不开瓶盖，用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，直接将其置于细胞培养箱内静置培养 2-4h；部分贴壁细胞会因运输从瓶壁脱落，可在静置后再次观察细胞贴壁情况；
2. 静置后可保留 6-8ml 培养基，将培养瓶内多余的完全培养基转移至 50ml 无菌离心管中，后续培养可以继续使用，转移多余培养基过程中注意瓶口消毒；
3. 上述操作后，细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%后，可参考细胞操作规程进行细胞传代或冻存；
4. 确认细胞状态良好后，应及时将细胞冻存或部分冻存，优先保存种子细胞，留种成功后，再进行后续的相关实验，避免后期实验失误或因细胞的污染或死亡而导致的种子细胞丢失。

冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后核对细胞信息，过程中冻存管置于干冰中即可，不要让冻存细胞离开干冰；
2. 若收到细胞当天不复苏，请及时将细胞转移至液氮罐中，注意转移过程动作要迅速；
3. 若无液氮罐，请及时将细胞转移到-80℃冰箱中保存，尽量靠内放置，不要靠近冰箱门或壁边缘等温度不稳定区；
4. 如需要复苏，请提前做好适合该细胞生长的培养基，请按细胞复苏流程操作，离心吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤；复苏的细胞不建议当天或者第二天换液，部分细胞贴壁时间长（48h 左右），若复苏有异常，请及时跟我们联系。

售后条例

■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞开瓶操作前有污染现象并于收货当天拍照反馈的(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)；
2. 常温细胞开瓶操作前有漏液现象污染现象并于当天拍照反馈，三天内细胞出现污染现象的；
3. 常温细胞开瓶操作前有细胞状态异常现象并于收货当天拍照反馈，(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)，根据情况不能调整培养或者调整培养一周后，状态仍然异常的；
4. 常温或冻存细胞运输途中遭遇的各种问题，培养瓶破裂，冻存管破损、冻存管融化等情况的；
5. 冻存细胞复苏第有问题反馈后，若在技术支持的指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要重发冻存的，需要加收干冰费用。

■ 不符合符合免费重发的条件：

1. 收到常温细胞时状态好，用户自身操作导致细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发；
2. 细胞培养时，经其他非细胞培养体系外源试剂处理导致细胞出现问题，不予免费重发；
3. 细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈的，不予以免费重发；
4. 收到冻存细胞复苏后状态好，用户自身操作导致的细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发。

细胞操作规程，仅供参考

■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，注意检查离心管密闭性，迅速放入 37℃ 水浴中摇晃解冻；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

■ 细胞传代

1. T25 瓶细胞汇合度至 80%，吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞，吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25% 胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗粒细胞的悬浮液；
6. 收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
8. 步骤 6 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

■ 细胞冻存

1. 吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞, 吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25%胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗细胞的悬浮液，吸出少量细胞悬液进行细胞计数；
6. 收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般 $(1-3) \times 10^6/\text{ml}$ ，分装至细胞冻存管中；
8. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于-80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，按商品说明书操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。