

## RCBBF 细胞 ; 兔角膜后基质层成纤维细胞

### 细胞基本信息

细胞名称	<u>RCBBF 细胞 ; 兔角膜后基质层成纤维细胞</u>
细胞品牌	金少源生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞英文	RCBBF 细胞
种属来源	兔
组织来源	角膜后基质
疾病特征	正常
细胞形态	成纤维细胞样
生长特性	贴壁生长
培养基	F12: Ham ' s F12 Nutrient Mixture 5%FBS
生长条件	气相: 空气, 95% ; 二氧化碳, 5% ; 温度: 37°C
传代方法	1: 2 至 1: 6, 每周 2 次
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO, 液氮储存
支原体检测	阴性
细胞简介	北京眼科研究所建系细胞。
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅限于科研实验使用, 不得用于其他用途

## 接受后处理

处理 1	收到细胞后, 请检查是否漏液, 如果漏液, 请拍照片发给我们
处理 2	请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37°C 培养约 2-3h
处理 3	弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基
处理 4	如果细胞密度达 80%-90% 请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司的完全培养基
处理 5	接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系

## 细胞操作

复苏细胞	<p>将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。</p> <p>在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。</p> <p>第二天换液并检查细胞密度。</p>
细胞传代	<p><b>如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</li> <li>2. 加 1ml 消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中, 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟, 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。</li> <li>3. 按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。</li> <li>4. 将细胞悬液按 1: 2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。</li> </ol>
细胞冻存	<p><b>待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:</b></p>

	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养基后，PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 1ml 含血清的培养基终止消化，可使用血球计数板计数。</li> <li>2. 4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞，根据细胞数量加入血清和 DMSO，轻轻混匀，DMSO 终浓度为 10%，细胞密度不低于 <math>1 \times 10^6</math>/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</li> <li>3. 将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</li> </ol>
<p>注意事项</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。</li> <li>2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。</li> <li>3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落，将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时，再取出观察。此时多数细胞均会贴壁，若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力，如果证实细胞活力正常，请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养；如果染色结果显示细胞无活力，请拍下照片及时和我们联系，信息确认后我们为您再免费寄送一次。</li> <li>4. 静置细胞贴壁后，请将细胞瓶内的培养基倒出，留 6~8mL 维持细胞正常培养，待细胞汇合度 80%左右时正常传代。</li> <li>5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养，培养瓶内多余的培养基可收集备用，细胞传代时可以一定比例和客户自备的培养基混合，使细胞逐渐适应培养条件。</li> </ol>

## 细胞备注

- 1) 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于本公司技术部沟通交流。
- 2) 如果细胞在运输中出现问题，可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，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解决。
- 3) 金少源生物客户在细购买细胞过程中各种问题，可以随时拨打免费服务电话 **4008-723-722**，我们随时给予实验中的解答。

## 细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

## 细胞不予重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。

5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。

**金少源(上海)生物科技有限公司提供的细胞仅供科研使用**