上海亿泽丰生物科技有限公司

产品说明书

品名 HCEC-B4G12 人角膜内皮细胞
Cat NO.: YCL-0971

产品基本信息

种属/性别/年龄： 人/女/91岁
组织来源： 原位：眼睛、角膜、内皮
生长特性： 贴壁
形态特征： 上皮细胞样
倍增时间： 40-75小时
保藏机构信息： DSMZ：ACC-647

背景/描述：
HCEC-B4G12 是 HCEC-12 的克隆亚群。为了使细胞能够长期传代，亲本细胞被 SV40 病毒早期区域基因（包括大 T 抗原和小 T 抗原）转化，从而获得了永生化能力。这种转化通常通过干扰 P53/RB 通路实现，但同时保留了角膜内皮细胞的若干分化特征。

培养须知（重要）

“Tips:
暂无。”

生物安全等级： BSL 2
使用限制： 仅供科研使用
培养基： 98%基础培养基+1%生长因子+1%P/S
推荐完全培养基： HCEC-B4G12 人角膜内皮细胞完全培养基 亿泽丰YCM-0971
建议传代比例： 1:2-1:3
建议换液频率： 2-3次/周
气相条件及温度： 95% 空气，5% 二氧化碳；37℃
自配冻存液： 55% 基础培养基+40%FBS+5%DMSO
推荐冻存液： 亿泽丰无血清冻存液（免程序降温）：RA-02
冻存温度： 液氮（-196℃）

收货须知

1：如您收到的是冻存细胞，请检查干冰余量及冻存管外观；重悬在冻存液中的细胞非常依赖超低温，收到货后应尽快解冻、复苏，如无法在短时间内复苏，请将冻存管移至-80℃冰箱（不超过一周）或液氮（可长期）中储存。
2：如您收到的是T25培养瓶寄送的常温细胞，请检查培养瓶是否存在漏液、破损或培养基浑浊现象。如无异常，请将多余培养基吸出（悬浮、半悬浮细胞需离心收集）只留7mL左右放入培养箱缓冲至少2小时后再视情况进行后续操作。如有任何疑问，请拍照反馈（照片将作为售后服务的重要依据）。
3：操作前请确保您已经了解该株细胞特性、培养条件等相关信息，以免不当操作带来的损失。
4：如您暂无细胞培养经验，请在操作前仔细阅读后面所附“操作指导”，或与我们的技术支持沟通交流。

操作指导（以下操作所加试剂量以T25培养瓶为例，其他培养器皿请注意换算）

复苏：

1：提前将水浴锅调节至37℃，并预热培养基；
2：准备一个T25培养瓶和一支15ml尖底离心管，并分别加入7ml、4ml预热的完全培养基；
3：将冻存管管身浸入水浴锅（管盖部分露出水面）并快速摇晃至内容物完全融化（**请在1-2min内完成**）；
4：立即取出冻存管，75%乙醇消毒冻存管后移至生物安全柜，吸出悬液加入备好的15ml离心管，200 -300 xg室温离心5min；
5：弃去上清，用手指指肚轻拨离心管底部以分散细胞沉淀，加入新鲜培养基重悬细胞后转入T25培养瓶，“十字法”晃动培养瓶以使细胞分布均匀；
6：如使用透气培养瓶可直接放入培养箱；非透气培养瓶请拧松瓶盖后再放入培养箱；若培养条件是L-15的，由于其缓冲系统由磷酸盐和游离碱基氨基酸组成，不需要通过吸收CO^2来维持培养液的pH稳定，需要使用密封盖的或封了口的培养瓶来保持无CO^2的环境。

传代：

> **当细胞密度达到80%以上时可进行传代培养，有特殊说明细胞除外**

1:提前预热培养基至37℃；
2:弃去培养基，加入5ml DPBS（或无钙镁离子PBS）轻轻晃动培养瓶润洗细胞层，尽量除尽上清后加入1ml %0.25胰酶消化液（含0.02% EDTA），室温或37℃消化至细胞变圆、大部分呈流沙样脱落；
3:消化完成后，立即加入3ml完全培养基终止消化，将细胞悬液移至15ml尖底离心管，200 -300 xg室温离心5min；
4:弃去上清，用手指指肚轻拨离心管底部以分散细胞沉淀，加入新鲜培养基重悬细胞后视推荐传代比例和收获细胞量接种到若干个新的T25培养瓶中；
5:如使用透气培养瓶可直接放入培养箱；非透气培养瓶请拧松瓶盖后再放入培养箱；若培养条件是L-15的，由于其缓冲系统由磷酸盐和游离碱基氨基酸组成，不需要通过吸收CO^2来维持培养液的pH稳定，需要使用密封盖的或封了口的培养瓶来保持无CO^2的环境。

CONTACT US

021-31151816
www.yzfbio.com
techsupport@yzfbio.com
上海市宝山区园丰路69号2号楼

微信公众号