

## 人视网膜色素上皮细胞

Cat NO.: CP-H129

### 一、产品简介

1. 产品名称：人视网膜色素上皮细胞
2. 组织来源：视网膜组织
3. 细胞简介：

人视网膜色素上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。视网膜色素上皮(RPE)位于脉络膜和光感受器细胞外节之间，是视网膜下腔和脉络膜血管之间的离子、水、营养物质和代谢终产物转运通道；主要是由单层色素上皮细胞所构成，排列十分规则。视网膜色素上皮参与视黄醇循环，吞噬脱落的光感受器细胞外节以维持光感受器细胞兴奋性，并分泌多种生长因子，帮助维持脉络膜血管内皮细胞和光感受器细胞的结构完整性。细胞呈多角形，细胞分为三部分，即顶部、体部和基底部。视网膜色素上皮细胞无再生能力，细胞死亡后不被替换，而是邻近的细胞向侧面滑动，以填补死亡细胞遗留下来的空间。视网膜色素上皮位于脉络膜和光感受器细胞外节之间，是视网膜下腔和脉络膜血管之间的离子、水、营养物质和代谢终产物转运通道。视网膜色素上皮参与视黄醇循环，吞噬脱落的光感受器细胞外节以维持光感受器细胞兴奋性，并分泌多种生长因子，帮助维持脉络膜血管内皮细胞和光感受器细胞的结构完整性。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人视网膜色素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视网膜色素上皮细胞经S-100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-H129
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	Accutase消化液或0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

人视网膜色素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<sup>最佳培养状态。</sup>

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

人视网膜色素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。
  - 2-1) 建议优先使用Accutase™消化液0.8-1mL至培养瓶中，均匀覆盖底部细胞，室温条件下消化5min。消化5min观察细胞是否有收缩、出现少量细胞从瓶底滑落，若有细胞滑落，就轻敲瓶身，使大部分细胞脱落；若无细胞滑落，就适当延长消化时间5-10min内，轻敲瓶身使大部分细胞脱落。根据细胞消化情况，若有较多残留可再消化收集。该细胞可累计消化15-20min，轻柔至中等力度吹打。
  - 2-2) 若无Accutase™消化液，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3-5min；倒置显微镜下观察，待细胞收缩、出现少量细胞从瓶底滑落，轻敲瓶身，使大部分细胞脱落。根据细胞消化情况，若有较多残留可再消化收集2-3次。
  - 3) 加入5mL完全培养基终止消化，用吸管轻轻吹打混匀，收集细胞悬液，经1200rpm离心5



min，弃上清，收集细胞沉淀；使用完全培养基重悬细胞，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

