

## 小鼠脑微血管内皮细胞

Cat NO.: CP-M108

## 一、产品简介

1. **产品名称：**小鼠脑微血管内皮细胞
2. **组织来源：**脑组织
3. **细胞简介：**

小鼠脑微血管内皮细胞分离自脑组织；脑微血管内皮细胞是血脑屏障的主要组成成分，它是组成脑微血管腔面单层扁平上皮样细胞，能够限制可溶性物质和细胞等从血液进入大脑，大脑微血管内皮细胞与外周内皮细胞相比具有一些相同特性。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，在脑血管疾病的发病机制中有重要病理生理学意义。与外周内皮细胞相同，大脑微血管内皮细胞表面表达细胞粘附分子，调控白细胞进入大脑。由于微血管内皮细胞的器官特异性，内皮细胞通常取源于疾病研究的相关组织。其主要特征如下：①脑微血管内皮细胞存在许多细胞间紧密连接，产生很高的跨内皮阻抗，延迟细胞旁的通量；②脑微血管内皮细胞缺乏内皮细胞的窗孔结构，其液相物质胞饮水平较低；③脑微血管内皮细胞具有不对称定位酶和载体介导转运系统，从而产生“两极分化”的表现型。

## 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的小鼠脑微血管内皮细胞采用胶原酶-中性蛋白酶混合消化法结合密度梯度离心法、最后通过内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小鼠脑微血管内皮细胞经CD31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 | PLL (0.1mg/ml) 或明胶 (0.1%)           |
| 培养基  | 含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等 |
| 产品货号 | CM-M108                             |
| 换液频率 | 每2-3天换液一次                           |
| 生长特性 | 贴壁                                  |
| 细胞形态 | 内皮细胞样                               |
| 传代特性 | 可传1-2代；不建议多次传代                      |
| 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%       |



小鼠脑微血管内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

小鼠脑微血管内皮细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈内皮细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传1-2代；不建议多次传代；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°C、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°C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°C、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. 细胞收货脱落

- 1) 收集所有细胞悬液，1000rpm，离心5min，保留沉淀；
- 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液0.5mL至离心管中，重悬沉淀，放置于37°C消化3min(或4°C冰箱静置5-7min)；消化完向离心管内加入5mL完全培养基终止消化；
- 3) 经1000rpm，离心5min，丢弃上清，用5mL完全培养基(补加1%FBS，促进贴壁)重悬沉淀，接种于新的培养瓶内；
- 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察；之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基(37°C预热)。

### 4. 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 I（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。

#### 特殊注意事项

6. 该细胞有比较严格的密度依赖，建议细胞密度大于90%时按1：2传代，培养于同等底面积培养容器中。不建议低于1/2密度传代，较低的密度下细胞会出现生长缓慢、形态改变等情况。

**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

