

猪脑微血管内皮细胞

Cat NO.: CP-P108

一、产品简介

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

猪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： 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； 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； 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猪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 5×10^5 cells/瓶。

5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的猪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	基础培养基，含FBS、EGF、bFGF、IGF、VEGF、Heparin、Hydrocortisone、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-P108
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 ₂ ，5%



猪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

猪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℃、5%CO₂、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℃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℃、5%CO₂、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. 复苏操作说明

1. 准备好37度水浴锅，预热至37度；
2. 准备好T25培养瓶，加入8-10 mL完全培养基（培养基量必须大于冻存液10倍体积）；
3. 取出干冰内冻存细胞管，用EP手套包裹冻存管（防止管内进水导致污染），迅速放于水浴锅内，于1 min内融化完全；
4. 取出冻存管，酒精喷洒消毒后擦干，置于超净台内；
5. 吸取冻存管内细胞悬液，加入步骤2中准备好的T25培养瓶内，8字缓慢摇匀；
6. 培养瓶放于37度CO₂恒温培养箱内，静置培养24h，更换新鲜换培养基（注意贴壁细胞、悬浮细胞不同换液操作方法）。

4. 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℃消化3min(或4℃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℃ 预热)。

5. 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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），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

