

## 小鼠脑动脉血管内皮细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-MOU-00159
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	小鼠脑动脉血管内皮细胞分离自脑组织；脉络膜前动脉为颈内动脉分为大脑前、中动脉前或从大脑中动脉近端发出的大穿通支。它先发出些小穿通支供应尾状核、内囊一部分及大脑脚、外侧膝状体的一半。大脑前动脉有人称为大脑内动脉。由颈内动脉发出后，在额叶眶面向内前方行走。血管内皮细胞(endothelial cell, EC)是衬于心血管和淋巴管腔内表面的一种单层扁平上皮细胞。EC 极薄,厚度约为 01~1μm,长约 25~50μm,宽约 10~15μm,在体内呈梭形,相邻细胞之间借少量粘合质彼此嵌合,细胞长轴与血流方向平行。其超微结构特点是在胞质中含有的特殊颗粒,称 Weibel-palade 小体(内含有与凝而有关的第Ⅷ因子相关抗原);细胞间有紧密连接的缝隙相连。EC 除了能保持血管壁内表面的光滑和通透性外,还有多种生物学功能,维持正常的血液流动性,分泌多种生物活性物质,在调节细胞生长,改变脂质代谢,维持血管壁的完整性,调节血管张力和选择性通透性以及免疫调节方面起到重要作用。EC 功能的异常,与血栓形成、动脉粥样硬化、高血压等心血管疾病及肿瘤扩散,免疫疾病都有密切关系。体外培养中的 EC 形态呈“鹅卵石样”镶嵌排列,细胞长满后呈接触抑制现象。
分离方法及质量控制 methods and quality control	小鼠表皮黑色素细胞采用混合酶解法制备而来,细胞总量约为 5×10 <sup>5</sup> cells,细胞经 Vimentin 免疫荧光鉴定,细胞纯度可达 85%以上,且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<p><b>细胞专用培养基组分:</b> 500ml 基础培养基; 胎牛血清; 细胞生长因子; 青霉素/链霉素溶液 (备注: 每种组分单独包装, 使用前需要按比例分装, 详细操作详见说明书, 现用现配, 效果更佳。)</p> <p><b>推荐专用培养基</b> <b>小鼠脑动脉血管内皮细胞完全培养基</b> 货号: <b>PCM-M-159</b></p> <p><b>0.05%消化液</b>货号: <b>CSP048</b></p> <p><b>无血清细胞冻存液:</b> <b>CSP077</b></p> <p><b>温度: 37℃</b></p> <p><b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b></p>
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意:</b>1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基;</p> <p>2.将冻存管放入 37℃水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区;</p> <p>3.小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min;</p> <p>4.弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量: 5~7ml) ;</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要 (如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
细胞传代	收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长

Subculturing	<p>长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察；</b></p> <p><b>2. 推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液 (推荐货号: CSP048) ；</b></p> <p><b>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</b></p>
细胞冻存 Cell cryopreservation	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</li> <li>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中，1000rpm，5 分钟离心收集培养细胞沉淀，彻底弃去离心管中的上清液。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度约为 <math>5 \times 10^5 - 1 \times 10^7</math> /ml。轻柔地混匀细胞，制成细胞混合液。</li> <li>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中，建议每管 1ml 或 1.5ml。</li> <li>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入 -80℃超低温冰箱中，可长期冷冻保存。</li> <li>7. 如果想液氮中长期保存，需先放入 -80℃冰箱至少一天时间，方可移至液氮罐中保存。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液 (货号: CSP077) 推荐。</li> </ol>
保存 Storage	保存条件：液氮长期存储
供应限制 Product Use	仅限科研，不可用于临床
安全性 Safety	<b>所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护</b>
常见问题及解决方案 Questions and solutions	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并及时拍照 (多倍数多视野)，包括染色照片，并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min)，加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min)，重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>

备注 additional information	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。 原代细胞体外培养周期非常有限，请尽快及时安排实验。 建议中乔新舟配套的专用细胞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。
------------------------------	---