

# 大鼠真皮微血管内皮细胞

## 基本信息

产品名称：大鼠真皮微血管内皮细胞

产品品牌：纪宁生物

组织来源：皮肤组织

产品规格：5×10<sup>5</sup>cells/T 25 细胞培养瓶

## 细胞简介

大鼠真皮微血管内皮细胞分离自真皮组织。真皮，位于表皮深层，向下与皮下组织相连，真皮结缔组织的胶原纤维和弹性纤维互相交织在一起，埋于基质内。其内分布着各种结缔组织细胞和大量的胶原纤维弹性纤维，使皮肤既有弹性，又有韧性。其由两层组成——乳头层与网状层。

真皮的结构组成是胶原蛋白、弹性纤维以及基质。微血管内皮细胞(M EC) 在炎症反应、肿瘤生长、创面愈合过程中起着非常重要的作用。在创面愈合研究领域，由于表皮细胞、真皮成纤维细胞体外培养技术的成熟，人们对这两种细胞早已进行了大量深入的研究。与之相比，对参与创面愈合过程的另一种主要细胞——真皮微血管内皮细胞，则因其体外分离培养技术的困难而使相关的研究受限。

## 方法简介

纪宁生物实验室分离的大鼠真皮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。

## 质量检测

纪宁生物实验室分离的大鼠真皮微血管内皮细胞经 C D 31 免疫荧光鉴定, 纯度可达 90% 以上, 且不含有 H I V -1、H B V 、H C V 、支原体、细菌、酵母和真菌等。

## 培养信息

包被条件：PLL(0.1 mg/ml) ，明胶(0.1%)

培养基：含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等

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 2-3 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%

大鼠真皮微血管内皮细胞体外培养周期有限。建议使用纪宁生物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。

## 细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 使用方法

大鼠真皮微血管内皮细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈内皮细胞样，在纪宁生物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 T 25 细胞培养瓶，用 75% 酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入 37°C、5% C O 2、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 1m L 至 T 25 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 5m L，置于 37°C、5% C O 2、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。之后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. 5m L 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) 。

5) 原瓶内贴壁细胞按正常消化处理。

#### 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 $\mu$ g/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。

## 注意事项

### 上海纪宁生物细胞仅供科研实验使用

1. 培养基于 4°C 条件下可保存 3-6 个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 传代培养过程中，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，便于和纪宁生物技术部沟通。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们纪宁系，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。

