

## 人真皮微血管内皮细胞

Cat NO.: CP-H098

### 一、产品简介

1. 产品名称：人真皮微血管内皮细胞
2. 组织来源：皮肤组织
3. 细胞简介：

人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(MEC)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。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人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。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的人真皮微血管内皮细胞经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)，明胶(0.1%)
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H098
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%

人真皮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

人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) 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%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℃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)。

## 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（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

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

普诺赛® | Pricella  
Procell

