

## 小鼠视网膜微血管周细胞

Cat NO.: CP-M315

### 一、产品简介

1. 产品名称：小鼠视网膜微血管周细胞
2. 组织来源：视网膜组织
3. 细胞简介：

小鼠视网膜微血管周细胞分离自视网膜组织；视网膜居于眼球壁的内层，是一层透明的薄膜。视网膜由色素上皮层和视网膜感觉层组成，两层间在病理情况下可分开，称为视网膜脱离。色素上皮层与脉络膜紧密相连，由色素上皮细胞组成，它们具有支持和营养光感受器细胞、遮光、散热以及再生和修复等作用。组织学上视网膜分为10层，由外向内分别为：色素上皮层、视锥、视杆细胞层、外界膜、外颗粒层、外丛状层、内颗粒层、内丛状层、神经节细胞层、神经纤维层、内界膜。视网膜内层为衬于血管膜内面的一层薄膜，有感光作用；后部鼻侧有一视神经乳头。视网膜上的感觉层是由三个神经元组成。第一神经元是视细胞层，专司感光，它包括锥细胞和杆细胞。视杆细胞主要在离中心凹较远的视网膜上，而视锥细胞则在中心凹处最多。第二层叫双节细胞，约有10到数百个视细胞通过双节细胞与一个神经节细胞相联系，负责联络作用。第三层叫节细胞层，专管传导。视网膜是一层菲薄的但又非常复杂的结构，它贴于眼球的后壁部，传递来自视网膜感受器冲动的神经纤维跨越视网膜表面，经由视神经到达出口。视网膜的分辨力是不均匀的，在黄斑区，其分辨能力最强。它是组成血管腔面单层扁平上皮样细胞，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，在视网膜血管疾病的发病机制中有重要病理生理学意义。周细胞(pericyte)又称Rouget细胞和壁细胞，是一种包围全身毛细血管和静脉中内皮细胞的细胞，可以收缩。周细胞嵌入毛细血管内皮细胞的基膜中，通过物理接触和旁分泌信号与内皮细胞进行细胞通讯，监视和稳定内皮细胞的成熟过程。此外，周细胞还具有调控毛细血管血流量、细胞碎屑清除和吞噬以及血脑屏障渗透性的作用，其多功能性是目前研究的热点之一，所以对血管周细胞的生物学特征、标记物、细胞功能等的研究都为相关研究提供基础资料。周细胞产生手指状的外延以调控毛细血管的血流量。周细胞和内皮细胞之间共同拥有一个基膜，基膜上有多种细胞连接，包括多种整合素、神经钙黏素、纤连蛋白以及接合素。它还参与毛细血管直径的双向调控；毛细血管受损时，周细胞还可增殖，分化为内皮细胞和成纤维细胞。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的小鼠视网膜微血管周细胞采用中性蛋白酶 - 胶原酶联合消化法制备而来制备而来，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视网膜微血管周细胞经  $\alpha$ -SMA免疫荧光鉴定，纯度可达9



0%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：

|      |                                     |
|------|-------------------------------------|
| 培养基  | 含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等 |
| 产品货号 | CM-M315                             |
| 换液频率 | 每3-4天换液一次                           |
| 生长特性 | 贴壁                                  |
| 细胞形态 | 成纤维细胞样                              |
| 传代特性 | 可传1-2代左右                            |
| 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%       |

小鼠视网膜微血管周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

小鼠视网膜微血管周细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈成纤维细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传1-2代左右；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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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。

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

