



永生化 ICR 小鼠脑微血管周细胞说明书

一、产品简介

- 1、产品名称：永生化 ICR 小鼠脑微血管周细胞
- 2、细胞来源：原代 ICR 小鼠脑微血管周细胞
- 3、平台编号：bio-133860
- 4、产品规格： 1×10^6 细胞/T25 方瓶
- 5、细胞简介：

虽然原代小鼠脑微血管周细胞更能真实地反映脑微血管周细胞在小鼠体内的生理状态，但是一方面原代分离培养小鼠脑微血管周细胞周期长及对技术人员经验要求较高，另一方面此原代细胞在体外的生长增殖能力非常缓慢有限，以至于此细胞不能多次传代，这些不利因素制约了原代小鼠脑微血管周细胞在实验室的广泛应用。欣润生物的研究团队拥有多年原代细胞分离培养及细胞永生化服务研究经验，成功建立了永生化小鼠脑微血管周细胞。

周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。在大脑中周细胞帮助维持血脑屏障，周细胞是大脑神经血管单位的重要组成部分。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。

本公司生产的永生化 ICR 小鼠脑微血管周细胞采用酶解法和 SV40T 慢病毒制备而来，细胞总量约为 1×10^6 /T25 方瓶，细胞纯度可达 90% 以上，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

培养基信息：

我们推荐使用欣润生物研制的永生化 ICR 小鼠脑微血管周细胞完全培养基（DMEM/F12+10%FBS+1%双抗）作为体外培养永生化 ICR 小鼠脑微血管周细胞的培养基。



二、使用方法

1、您收到细胞后，请按照以下方法进行操作：

取出 T25 方瓶，75%酒精擦拭培养瓶，拆下封口膜，放入 37℃，5%CO₂ 细胞培养箱中静置 2-3 小时，以稳定细胞状态，然后打开瓶子回收瓶子中培养液作为后续培养此细胞的完全培养液（备注：先使用瓶子中完全培养液培养及尽快冻存保种细胞，保存种子后再尝试自己完全培养液培养观察是否适合此细胞生长，以免使用自己培养液不适合细胞生长造成细胞状态不好或死亡），最后按照后面细胞传代步骤进行细胞传代培养。

2、细胞传代：

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 90%面积时，弃 T25 方瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞 3 次；
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 2ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，1200rpm/min，离心 5min；
- 3) 弃上清，沉淀细胞用 12ml 完全培养基重悬，然后按 1:2 比例进行分瓶传代，最后放入 37℃，5%CO₂ 细胞培养箱中培养；
- 4) 待细胞完全贴壁后，观察培养结果，之后进行换液培养或传代。

3、细胞冻存：

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 90%面积时，弃 T25 方瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞 3 次；
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 2ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后轻轻吹打细胞使之脱落，再加入完全培养液终止消化，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，1200rpm/min，离心 5min；
- 3) 用适当量的冻存液（完全培养液：FBS：DMSO=7:2:1）重悬细胞，并放置于冻存管中；



4) 先将细胞冻存管放置于-20℃ 1h, 然后将其移入-80℃过夜, 24h 后转入液氮中进行长期储存(或者按照梯度程序降温模式直接放置-80 度冻存后并转移液氮中长期储存)。

4、细胞复苏:

1) 从液氮中取出细胞冻存管(注意: 佩戴防爆管面具), 快速将其置入 37℃水浴中解冻, 直至冻存管中无结晶, 然后用 75%的酒精擦拭冻存管外壁;

2) 将冻存管中的细胞转移至含 5ml 完全培养液无菌离心管中, 1200rpm 离心 5min, 然后加入 5ml 完全培养液混匀细胞, 将细胞悬液转移至 T25 培养瓶中, 放置于 37℃, 5%CO₂ 细胞培养箱中培养;

3) 第二天, 换用新鲜完全培养基继续培养。

三、注意事项

- 1、培养基于 4℃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、该细胞只可用于科研;