

## 人视网膜微血管内皮细胞

Cat NO.: CP-H130

### 一、产品简介

1. 产品名称：人视网膜微血管内皮细胞
2. 组织来源：视网膜组织
3. 细胞简介：

人视网膜微血管内皮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。由于从不同的组织和器官获得的内皮细胞具有不同的特性，在脑和视网膜中，这些内皮细胞具有内屏障的功能，在调节血管生理状态，释放血管活性物质以及新生血管的形成中发挥着重要作用，体外分离培养RCEC对研究视网膜血管性疾病发生发展的病理生理机制以及疾病的早期防治具有重要临床意义。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人视网膜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视网膜微血管内皮细胞经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-H130



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%

人视网膜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

人视网膜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)。
  - 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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），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 $4^\circ\text{C}$ 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

