

鸭脑微血管内皮细胞永生化

一、细胞简介

细胞简介	脑微血管内皮细胞是血脑屏障的主要组成成分，能够限制可溶性物质和细胞等从血液进入大脑。大脑微血管内皮细胞与外周内皮细胞相比具有一些相同特性。 脑微血管内皮细胞存在许多细胞间紧密连接，产生很高的跨内皮阻抗，延迟细胞旁的通量；脑微血管的内皮细胞间衔接得十分紧密，不象其他组织的血管内皮细胞那样有较大的缝隙。脑微血管内皮细胞缺乏内皮细胞的窗孔结构，其液相物质胞饮水平较低；脑微血管内皮细胞具有不对称定位酶和载体介导转运系统，从而产生“两极分化”的表现型。与外周内皮细胞相同，大脑微血管内皮细胞表面表达细胞粘附分子，调控白细胞进入大脑。由于微血管内皮细胞的器官特异性，内皮细胞通常取源于疾病研究的相关组织。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。			
细胞名称	鸭脑微血管内皮细胞永生化			
细胞别称	Immortalization of duck brain microvascular endothelial cells			
细胞货号	Delf-11587			
来源	鸭；脑			
细胞形态	铺路石状细胞，不规则细胞			
生长特性	贴壁生长			
鉴定报告	提供免疫荧光鉴定(波形蛋白 Vimmentin 免疫荧光染色为阳性)			
培养条件	推荐使用 鸭脑微血管内皮细胞永生化专用培养基 （货号：Delf-15948）培养该细胞。			
	名称	体积	浓度	保存条件
	鸭脑微血管内皮细胞永生化基础培养基	465ml	1×	4℃、避光
	鸭脑微血管内皮细胞永生化培养添加剂	5ml	100×	-20℃、避光
	胎牛血清 (FBS)	25ml	终浓度 5%	-20℃、避光
	双抗 (青霉素/链霉素, P/S)	5ml	100×	-20℃、避光
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，培养箱湿度为70%-80%。			
二、细胞复苏方法				
复苏步骤	1、将冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻； 2、加入到含4-6mL基础培养基(含10%FBS)的离心管中混合均匀； 3、在1000RPM条件下离心5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞；			

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



	4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃培养；
--	--

三、细胞传代方法

传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基； 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，吸走润洗的 PBS； 3、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)； 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 (1 到 2 分钟，难消化的细胞适当增加时间)； 5、消化到细胞大部分变圆并脱落，轻敲培养瓶后加入 3-4ml 基础培养基 (含 10%FBS) 终止消化； 6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 5min，弃上清；补加 1-2ml 完培吹匀； 7、按 1:2 分配到新的培养瓶中，添加 6-8ml 完培保持细胞生长；
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程

四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；

五、注意事项

注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027		

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

