

小鼠主动脉平滑肌细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-MK025

产品描述

主动脉是体循环的动脉主干，而血管平滑肌细胞（VSMC）的异常增殖是许多心血管疾病的共同病理基础，在高血压、动脉粥样硬化和血管成形术后再狭窄等许多血管性疾病中，都涉及到血管平滑肌细胞的异常增殖。血管由 3 个部分组成，自内向外依次是内膜层、中膜层和外膜层，内膜层主要由血管内皮层细胞和少量平滑肌细胞组成，外膜层由成纤维细胞组成，中膜层由血管平滑肌细胞组成，平滑肌细胞主要收缩调节机体的血流和血压，其功能障碍在心血管疾病中起着非常重要的作用。因此，对血管平滑肌的生物学特性进行深入研究，才能探明上述血管疾病的发病机制。在 VSMC 的研究中，主要采用组织块贴壁法和胶原酶消化法提取原代细胞。体外培养的主动脉平滑肌细胞对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具重要意义。

适用范围

该试剂盒适用于 C57BL/6J、BALB/c 等不同品系的小鼠主动脉平滑肌细胞提取试剂盒。

规格

本试剂盒规格为 10 次（以3-5 只小鼠为 1 次计）

运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表。试剂开封后，有效期为 6-8 周。

配套培养基信息

表 1. 分离培养试剂盒组成信息

产品名称	产品规格	储存条件
小鼠主动脉平滑肌细胞组织专用消化液	50 mL	-20°C,避光保存,3 个月
小鼠主动脉平滑肌细胞组织处理缓冲液	500 mL	2-8°C,避光保存,3 个月

小鼠主动脉平滑肌细胞贴壁培养基	50ml	2-8°C,避光保存,3 个月
小鼠主动脉平滑肌细胞专用培养基	500ml	2-8°C,避光保存,3 个月

分离步骤

实验前准备：小鼠主动脉平滑肌细胞组织专用消化液、小鼠主动脉平滑肌细胞组织处理缓冲液（冰）、小鼠主动脉平滑肌细胞专用培养基；实验需自备手术器械、6孔/6cm培养皿、离心管若干。

一、小鼠主动脉平滑肌细胞提取：下面以 3 只 C57BL/6J 小鼠为例

D1:

1. 安乐处死 7~10 周龄小鼠，将其腹面向上固定在操作台，用 75% 酒精消毒全身。
2. 将固定好的小鼠转移至生物安全柜中，使用钝镊拎起腹部皮肤，用剪刀剪开腹部，暴露胸、腹主动脉。
3. 沿脊柱剪取腹主动脉到主动脉弓的一段血管，立即将其浸泡在冰的小鼠主动脉平滑肌细胞组织处理缓冲液中。
4. 用冰的小鼠主动脉平滑肌细胞组织处理缓冲液漂洗组织三次
5. 将主动脉转移到装有 2mL 小鼠主动脉平滑肌细胞组织专用消化液的 15mL 离心管，37°C 消化 15min。
6. 将主动脉取出置于小鼠主动脉平滑肌细胞组织处理缓冲液中，去除外膜（尽量去干净，具体操作步骤可查阅逸漠生物视频号），用弹簧剪剪开主动脉，用精镊刮去内膜后，将其剪成 1mm 小块组织。
7. 将剪碎的主动脉组织置于装有 3mL 小鼠主动脉平滑肌细胞组织专用消化液的 15mL 离心管中，37°C 过夜消化 14-16 小时。

D2:

1. 将过夜消化的 15mL 离心管取出，300xg，离心 5min。
2. 取 2mL 小鼠主动脉平滑肌细胞贴壁培养基重悬细胞，种 6 孔培养皿中。
3. 细胞贴壁后，更换专用培养基培养。（约 3-4 天左右，具体看细胞状态）

注：1. 由于组织量较少，在 D2 的步骤一离心后沉淀极少，几乎看不见。按照正常操作步骤弃上清，用培养基重悬细胞种板即可。

2.2~3 天左右细胞部分贴壁

注意事项

1. 建议全程分离操作过程在冰上进行，可提高细胞活性。
2. 小鼠主动脉平滑肌细胞专用消化液、培养基中含有微生物生长所需的营养成分，请在超净工作台内打开，按照所需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。