

HUVEC 人脐静脉内皮细胞永生化

细胞说明书

本产品仅供研究使用

产品货号	产品名称	规格
EB-h110	HUVEC 人脐静脉内皮细胞永生化	1×10^6 cells

细胞介绍

脐带是哺乳类的连接胎儿和胎盘的管状结构。脐带中通过尿膜的血管即脐动脉和脐静脉，卵黄囊的血管即脐肠系膜动脉及脐肠系膜静脉。在子宫中，子宫动脉在胎盘的母体部分出的毛细血管，与胎盘的子体部胎儿毛细血管靠近，在此处母体和胎儿的血液间进行 CO_2 和 O_2 ，代谢产物即代谢废物和营养物质的交换。脐动脉将胎儿来的废物运送至胎盘，脐静脉将 O_2 和营养物质从胎盘运送给胎儿。由于脐带是分娩过程中的废弃物，同时从脐带中分离人脐静脉内皮细胞方法相对成熟，使得人脐静脉内皮细胞作为工具细胞，在医学和生物学研究领域中获得广泛应用。

该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。

细胞特性

- 1) 来源：人脐带组织
- 2) 形态：内皮细胞样 贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

运输和保存

干冰运输及复苏好存活细胞：

- (1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
- (2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（ $10\times$ ， $20\times$ ）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

3) 贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 80%-90% 以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

4) **备注: 运输用的培养基 (灌液培养基) 不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

培养基及培养冻存条件准备

1) 准备 HUVEC 细胞专用培养基

细胞基础培养基	465 mL
胎牛血清 (FBS)	25mL
HUVEC 细胞添加剂	5mL
青霉素/链霉素, P/S	5mL

2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。

3) 冻存液: 90%血清, 10%DMSO, 现用现配。

细胞处理

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 已经预热备用的完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 用完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8mL 已经预热好完全培养基的培养瓶 (或皿) 中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) **换液:** 细胞在没有长满的情况下, 需要在完全培养基营养枯竭前进行更换, 通常为 48~72 小时需要更换一次新鲜完全培养基, 换液是不需要 PBS 润洗细胞的, 直接抽出旧培养基轻柔注入预热好的新鲜完全培养基即可。

3) **细胞传代:** 如果细胞密度达 95%-100%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次。
2. 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), 置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 鉴于绝大多数培养基品牌厂商的内皮细胞类完全培养基采用低血清设计方案, 那么轻敲几下培养瓶后一定要加入 3-6mL 含 10%FBS 的培养基来**终止消化**, 可临时用 DMEM+10%FBS 或者 RPMI-1640+10%FBS 等配置。
3. 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后轻柔吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8mL 按照说明书要求配置的新的**内皮细胞完全培养基**以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:3 的比例进行。
- 4) **细胞冻存:** 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:
 1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/mL。
 2. 1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 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, 标注好名称、代数、日期等信息。简单理解为一个 T25 培养瓶长满后的细胞冷冻到一支冻存管内。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

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。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话：13564444959

官网：www.followme-shop.com

地址：北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服