

HUVEC 人脐静脉内皮细胞-永生化

使用说明书

|                            |  |
|----------------------------|--|
| 细胞名称<br>Cell name          | HUVEC 人脐静脉内皮细胞-永生化   |
| 货号<br>NO.                  | ZQY004   |
| 描述<br>Description          |  |
| 种属<br>Species              | 人  |
| 组织来源<br>Tissue             | 脐静脉  |
| 形态<br>Morphology           | 上皮   |
| 永生化方法<br>Method            | 转入 Sv40 和 hTERT 基因   |
| 培养特性<br>Culture Properties | 贴壁   |
| 安全性<br>Safety              | 所有肿瘤和病毒转染的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   |
| 培养基<br>Culture Medium      | <p><b>推荐自配培养基：</b> 500 ml 基础培养基； 25 ml 胎牛血清、； 5ml 内皮细胞生长因子； 5ml 青霉素/链霉素溶液</p> <p><b>（备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。）</b></p> <p><b>推荐专用培养基：</b>（中乔新舟 货号：<b>ZQ1304</b>）</p> <p><b>推荐包被液货号：</b>（<b>CSP044</b>） <b>促进细胞贴壁生长</b></p> <p><b>温度：</b> 37°C</p> <p><b>气相：</b> 95%空气， 5%二氧化碳</p>   |
| 细胞复苏<br>Cell Thawing       | <p><b>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p>1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>2. 将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，<b>1000rpm 离心 5min；</b></p> <p>4. 弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p> |
|                            | 收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，   |

|  |  |
|--|--|
| <p>传代<br/>Subculturing</p>                   | <p>待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>（一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液；</li> <li>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</li> <li>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</li> </ol> |
| <p>保存<br/>Storage</p>                        | <p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>  |
| <p>供应限制<br/>Product Use</p>                  | <p>仅供研究之用</p>  |
| <p>常见问题及解决方案<br/>Questions and solutions</p> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>  |