

## HAEC 人主动脉内皮细胞-永生化

### 使用说明书

细胞名称 Cell name	HAEC 人主动脉内皮细胞-永生化
货号 NO.	ZQY001
种属 Species	人
组织来源 Tissue	主动脉
永生化方法 Method	转入 SV40 和 hTERT 基因
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 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，并请注意防护
培养基 Culture Medium	<p>配套完全培养基：中乔新舟内皮细胞专用培养基，货号：<a href="#">ZQ-1304</a></p> <p>温度：37°C</p> <p>气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意：</b></p> <p>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。</p> <p>2. 提前室温预热培养基</p> <p>1. 在无菌区准备好T-25培养瓶加入约5ml培养基。</p> <p>2. 将冻存管放入37°C水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。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，加入到准备好的培养瓶中。</p> <p><b>注意：由于本公司采用 Scicell 公司冻存液，因此不建议在解冻后进行细胞稀释和离心。</b></p> <p>4. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>5. 将培养瓶放入CO<sub>2</sub>培养箱中培养。</p> <p>6. 过夜后，观察细胞形态并更换培养基。</p>
传代 Subculturing	<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，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，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，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> <p>1. 弃去培养液，用PBS洗涤1-2次；</p> <p>2. 加入1.0ml胰酶消化液，<b>37°C消化2-3min</b>，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，加入至少双倍的含10%血清</p>

	的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液； 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rmp/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散； 4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 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。 <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> <b>2.推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液；</b> <b>3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b>
保存 Storage	冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMSO 保存条件：液氮存储
供应限制 Product Use	仅供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	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。 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） 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（1000rmp, 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） 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（1000rmp, 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） 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。