

## 人脐静脉融合细胞 (EA.hy926)

### 细胞介绍

在 PEG 胁迫下，将原代培养的人脐静脉细胞与抗硫鸟嘌呤的 A549 克隆株融合，构建了人脐静脉细胞株 EA.hy926。融合子在 HAT 培养基上生长并以八因子相关抗原筛选。EA.hy926 已经过 100 次以上的群体倍增 (PDLs)。电镜照片显示 Weibel-Palade 小体的细胞质分布以及组织特异性的细胞器，分化的内皮细胞特性如血管生成，体内平衡/血栓形成，血压及炎症反应。

### 细胞特性

- 1) 来源：静脉内皮细胞与 A549 细胞株融合
- 2) 形态：梭形，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存：**使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

**细胞用途：**仅供科研使用。

### 细胞培养步骤

#### 1) 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 DMEM-H 培养基 (DMEM-H, GIBCO, 货号 12800017, 添加  $\text{NaHCO}_3$  1.5g/L), 90%; 胎牛血清, 10%。(DMEM 液体培养基: GIBCO, 11995-065)。
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% 完全培养基, 10% DMSO, 现用现配。液氮储存。

#### 2) 细胞处理：

**复苏细胞：**将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

**细胞传代：**如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

力口 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2分钟，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，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。

将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

收到细胞后，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。

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。