

人静脉内皮细胞 (HUV-EC)

细胞介绍

该细胞来源于人静脉内皮，可在半固体培养基中形成克隆，在免疫抑制小鼠中不能形成肿瘤。

细胞特性

- 1) **来源**：人静脉内皮
- 2) **形态**：内皮细胞
- 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：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1)干冰运输，收到后立即转入液氮或者-80度冰箱冻存或直接复苏；(2)存活细胞，收到后应继续生长，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。 **收到细胞后请拍照，3天内如果发现污染，请及时拍照与我们联系。**

细胞用途：仅供科研使用。

细胞接收后的处理：

1. 收到细胞后，请检查是否漏液，如果漏液，请拍照片发给我们。
2. 请先在显微镜下确认细胞生长状态，酒精消毒瓶壁并将 T25瓶置于 37°C 培养约 2-3h。
3. 弃去 T25瓶中的培养基，添加 6ml 本公司附带的完全培养基。
4. 如果细胞长满 80%-90%请及时进行细胞传代，传代培养用本公司附带的完全培养基。

细胞培养步骤

1) 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 F-12K 培养基(F-12K:SIGMA, 货号 N3520, 添加 0.1 mg/ml 肝素;0.03-0.05 mg/ml 内皮细胞生长因子), 90%;优质胎牛血清, 10%。
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。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 2m l 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。

3)细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

下面 T25瓶为例；

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。

1000rpm 离心分钟去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。

将冻存管置于程序降温盒中，放入-80度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

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。