

## HUVEC-GFP/人脐静脉内皮细胞永生化-绿色荧光蛋白标记(免疫荧光鉴定)

| 一、基本信息 |  |
|--------|--|
| 细胞名称   | HUVEC-GFP/人脐静脉内皮细胞永生化-绿色荧光蛋白标记   |
| 细胞品牌   | 江蓝纯生物  |
| 细胞规格   | 1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管  |
| 种属来源   | 人  |
| 组织来源   | 脐静脉  |
| 细胞形态   | 内皮细胞样  |
| 细胞简介   | <p>Luciferase HUVEC 细胞稳定表达萤光蛋白。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作萤光蛋白活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。HUVEC-GFP 细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。HUVEC 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</p>   |
| 特别注意   | <p>1、HUVEC 细胞为稳定转染 GFP 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 GFP 荧光强度会逐渐减弱。</p> <p>2、若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选，可定期用 1.0ug/ml 浓度 puro 维持。若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2.0ug/ml puro 的完全培养基继续筛选，以此类推，至最高药物浓度为 5.0ug/ml。若筛选过程中，漂浮细胞大于 60%，则停止筛选，换成正常培养</p> |

|        |  |
|--------|--|
|        | <p>基培养, 至细胞密度约 80%, 可继续加入同浓度 puro 进行筛选。当加入 5.0 ug/ml puro 时细胞正常增殖, 可停止筛选, 用不含药完全培养基正常培养。</p> <p>3、建议收到 HUVEC-GFP 细胞后至少传 3 代, 冻存留种后再进行筛选。</p> |
| 细胞代数   | 10 代以内   |
| 生物安全等级 | 1  |
| 生长特性   | 贴壁生长   |
| 生长条件   | 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C   |
| 培养基    | 内皮细胞专用培养基  |
| 冻存条件   | 无血清冻存液, 液氮储存   |
| 细胞货期   | 现货, 1 周左右  |
| 供应范围   | 仅用于科研使用, 不得用于其它用途  |

## 二、细胞培养操作

### T25 瓶

|      |  |
|------|--|
| 收货处理 | 观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定细胞状态  |
| 传代密度 | 细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养  |
| 传代比例 | 首次传代建议 1: 2 传代, 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿   |
| 传代方法 | <p><b>a</b>、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p><b>b</b>、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 1-3min (视细胞情况而定), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞</p> |

|      |   |
|------|---|
|      | <p>大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p>c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。</p> |
| 注意事项 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 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。</li> <li>2. 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。</li> </ol>     |

## 冻存管

|      |   |
|------|---|
| 收货处理 | 到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏   |
| 传代密度 | 第二天换液并检查细胞密度  |
| 传代比例 | 一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶  |
| 传代方法 | 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。 |
| 注意事项 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</li> <li>2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。</li> </ol>                       |

## 三、细胞冻存操作

|       |                               |
|-------|-------------------------------|
| 冻存液配方 | 无血清冻存液，液氮储存                   |
| 细胞密度  | 待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例 |

|      |   |
|------|---|
| 冻存方法 | <p>a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p>c、将冻存管放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p> |
| 注意事项 | 冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案   |

#### 四、售后服务

|       |  |
|-------|--|
| 细胞予重发 | <ol style="list-style-type: none"><li>1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。</li><li>2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。</li><li>3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。</li><li>4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。</li><li>5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。</li><li>6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。</li></ol> |
|-------|--|

**细胞不重发**

1. 客户操作造成细胞污染, 不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好, 不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好, 不重发。
4. 细胞状态不好, 未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片, 不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的, 不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的, 不重发。