

细胞产品手册

OriCell[®] 人脐静脉内皮细胞(原代永生化)

产品货号: HUVEC-20601



产品介绍

血管内皮细胞是覆盖在血管内膜表面纵向排列的单层扁平细胞。其直接接触血液系统，是血液系统和组织间的屏障，具有多种生理功能。在维持血管张力、调节血压、抗血栓形成、新生血管形成等方面有重要作用。目前多种内皮细胞被应用于科研实验中，其中人脐静脉内皮细胞被广泛应用于医学和药学研究，尤其在高血压、心脑血管疾病及肿瘤浸润、转移等的发病机制研究领域。

原代人脐静脉内皮细胞的传代能力有限，为满足科研需求，赛业 OriCell®研发团队专门开发永生化人脐静脉内皮细胞。赛业 OriCell®人脐静脉内皮细胞（原代永生化）是通过慢病毒转染方式将 SV40T 基因转入原代人脐静脉内皮细胞（HUVEC）中，并经过筛选获得。

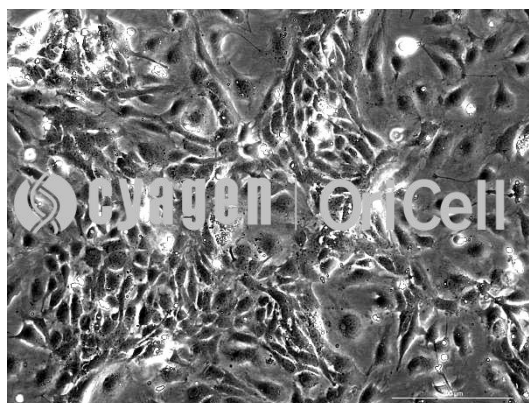
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

使用本产品发表的文献需注明： (OriCell, Cat.No. HUVEC-20601) from Cyagen.

产品信息

产品名称	OriCell® 人脐静脉内皮细胞(原代永生化)
货号	HUVEC-20601
规格	1×10 ⁶ 个/管 或 1×10 ⁶ 个/瓶
冻存代次	P5
保存条件	液氮 (-196℃)

OriCell® 人脐静脉内皮细胞(原代永生化)在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>80%。
- 通过细胞周期检测，倍增周期<72 h。
- 通过流式检测，CD31、CD105 (>70%)，CD45 阴性 (<5%)。
- 免疫荧光法检测破壁细胞 vWF 阳性 (>70%)。
- 可经诱导形成血管结构。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. 人脐静脉内皮细胞（原代永生代）可在体外传代 10 次以上依然保持各项指标合格。但我们始终建议尽可能使用较低代次细胞进行科研工作。
5. 通常人脐静脉内皮细胞（原代永生代）接种密度为 $(2.5\sim4) \times 10^4$ 个活细胞/cm²。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系的关系极大。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® 人脐静脉内皮细胞（原代永生化）（货号：HUVEC-20601）
- OriCell® 人脐静脉内皮细胞完全培养基（货号：HUVEC-90011，以下简称完全培养基）

操作步骤

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

注意：请以公式 $RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$ 计算相应转速 [RCF:离心力, r:转子半径(cm), RPM:转速]。

9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意：若发现较多漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。

13. 之后，每 2 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至 90%汇合，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- OriCell® 人脐静脉内皮细胞完全培养基 (货号: HUVEC-90011, 以下简称完全培养基)

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证充分接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。

注意: 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。

8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按 $(2.5\sim4) \times 10^4$ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 培养人脐静脉内皮细胞 (原代永生化) 对于细胞密度有较高的要求, 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® 人脐静脉内皮细胞 (原代永生化) 传代比例为 1:2,

72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
13. 传代次日，观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞，应予以换液。
14. 待细胞生长至 90%汇合，即需传代或冻存。

注意：正常情况下 OriCell® 人脐静脉内皮细胞（原代永生化）每代生长时间不超过 72 h，中途不需要换液。频繁换液会破坏构建起的细胞微环境。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell®通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell®通用血清型非程序冻存液（货号：NCRC-10001）

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® 人脐静脉内皮细胞（原代永生化）的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意：在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell®非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入-80°C冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是开始冻存的 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在-80°C冰箱中。我们建议在-80°C冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。