



## 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  |
| 细胞编号   | JN-CC2484   |
| 细胞品牌   | 纪宁生物  |
| 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 细胞稳定表达荧光蛋白。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作荧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。</p> <p>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</p> |



|        |   |
|--------|---|
|        | <p>60%，则停止筛选，换成正常培养基培养，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℃  |
| 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  |
| 发货方式   | 复苏发货（T25 瓶免运输费用） / 冻存发货（需加干冰运输费用）   |
| 供应范围   | 仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用   |

## 二、细胞培养操作

### T 25 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。<br>不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿 |
| 传代方法 | <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><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, 弃去消化液, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 1-3 min, 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, 加少量培养基终止消化。</p> <p><b>c.</b> 按 6-8 mL/瓶补加培养基, 轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 4 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p><b>d.</b> 将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中置于培养箱中培养。</p> |
| 注意事项            | <p><b>1.</b> 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。</p> <p><b>2.</b> 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。</p>   |
| <b>冻存管</b>      |   |
| 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            | <p>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。</p>  |
| 注意事项            | <p><b>1.</b> 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。</p> <p><b>2.</b> 为保证细胞的高存活率, 收到产品后, 请立即解冻复苏细胞。</p>   |
| <b>三、细胞冻存操作</b> |   |



|       |  |
|-------|--|
| 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><b>a</b>、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>b</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><b>c</b>、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—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。

**五、特别说明**

上海纪宁生物客户购买本公司的细胞过程中，有任何技术问题或实验问题，都可以拨打我们的免费服务电话 **15800441226 / 021-54721350**，我们随时给予技术中 / 实验中的免费解答。