

## 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)

### 细胞培养说明

血管内皮细胞对维持血管动态平衡起着重要作用。血管内皮细胞合成、分泌凝血和纤溶系统的激活因子和抑制因子、影响血小板粘附和聚集的调节因子。此外，它们还释放控制细胞增殖和调节血管壁紧张度的分子。人脐静脉和动脉内皮细胞是这类研究中最常用的细胞类型。除了普通的内皮细胞特征例如“鹅卵石”状，vWF/Factor VIII和CD-31染色呈阳性，能摄取乙酰基化低密度脂蛋白，人脐血管内皮细胞CD31染色阳性。用IL-1或TNF- $\alpha$ 预先处理过的细胞也能选择性地表达E-selectin和VCAM。

人脐静脉内皮细胞(HUVEC)提取于人脐带静脉组织，低温保存并冷冻运输。每管含有细胞数  $>5 \times 10^5$  cells，此细胞通过vWF/Factor VIII和CD31 (P-CAM)免疫荧光染色验证。经测试不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌，细胞可以达到15倍增。

**推荐培养基：** 建议使用内皮细胞培养基(货号：ZQ-1304)用于 HUVEC 的体外培养。

**产品使用：** HUVEC 仅供科研研究使用。

**存储：** 收到后，请立即将细胞转移到液氮中存储。

**发货方式：** 干冰或者培养瓶。

### 细胞复苏：

注意:低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。

1. 在无菌区准备好培养瓶 ( T-25 ) 加入约 5ml 培养基 ( 货号 : ZQ-1304 ) 。
2. 将冻存管放入 37°C 的水浴中，握住小瓶，轻轻旋转，直到完全融化。立即将小瓶从水浴中取出，擦干并用喷洒 75%乙醇，移至无菌区。
3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的培养瓶中。

注意:不建议在解冻后进行细胞稀释和离心，因为这些操作对细胞的危害大于 DMSO 在培养物中的残留作用。

4. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。
5. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
6. 为了达到最佳效果，在培养开始后 16 小时内不要挪动培养瓶。

### 细胞培养:

1. 复苏后，细胞培养过夜观察细胞状态，并更换培养基。
2. 细胞达到约 90-95%的融合可进行传代。

### 细胞传代：

1. 当细胞达到 90-95%的融合可进行传代。
2. 预热完全培养基（货号：ZQ-1304），胰蛋白酶/EDTA（T/E）溶液(ZQ509)，PBS(ZQ-1300)到室温。我们不建议在使用前在 37°C的水浴中加热试剂。
3. 用 PBS 轻轻地冲洗细胞。
4. 在培养瓶(T-25)中加入 1ml T/E 溶液。轻轻地摇动培养瓶，以确保 T/E 溶液完全覆盖细胞。将培养瓶置于 37 °C 的培养箱中 2-3min，或显微镜下观察细胞形态的变化，直至细胞完全变圆。
5. 期间，准备一个 15ml 离心管加入 2ml 完全培养基（货号：ZQ-1304）。
6. 轻轻拍打培养瓶的一侧，将 T/E 溶液从培养瓶中转移到 15ml 离心管中，可从 15ml 离心管中吸出部分培养基轻轻吹打培养瓶，并转回 15ml 离心管。在显微镜下检查以确保所有的细胞都转出。

**注意：如有细胞没有完全脱离培养瓶(T-25)，加入 1ml T/E 溶液，在 37°C下继续孵育培养瓶 1-2min 后加入 2 ml 完全培养基（货号：ZQ-1304），轻轻冲洗培养瓶将分离的细胞转移到 15ml 离心管中。**

7. 在显微镜下检查培养瓶中细胞的数量，残留细胞应该少于 5%。

**注意:使用原代细胞专用 T/E 溶液（ZQ509），可最大限度地减少因过度消化而造成的细胞损伤，但仍需避免多次消化。**

8. 将 15ml 离心管以 1000 转/分离心 5min。
9. 准备新培养瓶（T25）加入 5-7ml 完全培养基。
10. 去除离心后上清，轻轻拨动细胞团块，加入适当完全培养基轻轻混匀细胞，根据传代比例吸取细胞悬液加入培养瓶。
11. 放入 CO<sub>2</sub> 培养箱培养，过夜后观察细胞状态并换培养液。

**注意:处理人类衍生产品有潜在的生物危害。虽然每一种检测 HIV、HBV 和 HCV DNA 的细胞株都呈阴性，但诊断检测不一定 100%准确，因此必须采取适当的预防措施，以避免意外接触。使用这些材料时一定要戴手套和安全眼镜。我们建议遵循处理原产自人类产品的通用程序，作为对污染的最低预防措施。**