人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒

货号：PCM-I-013　　规格：10T（适用于 48 孔板）

【产品简介】

人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒，适用于 HUVEC 原代细胞及 HUVEC 细胞系的血管形成实验。

本试剂盒已完成生物安全检测与产品质量检测，实验体系稳定，可现货供应。配套专业技术指导服务，保障实验顺利开展。

【质量控制】

生物安全	细菌/真菌/支原体检测阴性
质量测试	HUVEC 成管实验测试成管良好

套装组分	组分体积	储存条件	有效期	运输条件
ECM 内皮细胞培养基 ECM（货号：ZQ-1304-100）	100 mL	-20℃	12 个月	干冰
Matrigel 血管形成实验专用基质胶（货号：CSP210-2）	2 mL	-20℃	12 个月	干冰

【实验原理】

HUVEC 血管形成实验是公认的体外血管生成评价方法。其原理为：将内皮细胞接种于低生长因子基底膜提取物凝胶上进行培养，内皮细胞可形成三维毛细管样管状结构，以此评估细胞的血管生成能力。随着培养时间延长，HUVEC 逐步组装形成管状多边形网络。

【使用方法】

➢ **实验前准备基质胶解冻及耗材预冷**

1. 实验前一天，将基质胶转移至 4℃冰箱过夜解冻。
2. 将使用的无菌孔板及枪头移液管等放置在 4℃冰箱中过夜预冷（4℃仅为液体状态，不会发生固化）。也可当天提前 1-2 h 置于-20℃冰箱中预冷。

注意：基质胶对温度高度敏感，建议在冰盒上完成解冻，解冻全程不要脱离低温环境，防止基质胶凝固。

➢ **基质胶铺板及细胞饥饿处理**

1. 将解冻后的基质胶置于冰上，轻柔翻转混匀；取出充分预冷的孔板，使用预冷的移液管或枪头吸取基质胶。48 孔板每孔加入 130~180 μL 基质胶，可依据实验需求调整加样体积。
2. 铺胶完成后，保持孔板水平，置于 4℃冰箱 30 min 或静置过夜，使基质胶充分自流平。
3. 取对数生长期 HUVEC，采用 HUVEC 基础培养基饥饿处理 12–16 h（饥饿处理步骤可根据实验方案选择是否进行）。

表格 1 不同底面积的孔板的基质胶参考使用量

孔板	孔板底面积（cm^2）	基质胶用量（μL）
24 孔板	2	200~300
48 孔板	0.95	130~180
96 孔板	0.32	50~80

注意：

- 加入血管形成实验专用基质胶时应缓慢轻柔滴加，枪头内最后一点可不加入，避免出现较多气泡；
- 可使用预冷后的枪头小心戳破，小气泡孵育过夜后会基本消失。

➢ **血管形成实验专用基质胶固化及 HUVEC 细胞消化收集**

1. 将 4℃的铺好血管形成实验专用基质胶的孔板提前放置在 37℃培养箱中固化 30 min。
2. 对达到 80%融合的 HUVEC 细胞进行消化，离心，计数。（优先使用 P3-P6 低代次 HUVEC）

注意：

- 此过程不要取出孔板并摇晃，会导致凝胶的不均匀；凝胶形成后先观察凝胶的形成状态，确保凝胶表面是平整均匀的状态后再进行实验；
- 计数后的细胞活率应尽量高于 90%，活率越高，成管效果越好。

➢ **细胞悬液接种及观察拍照**

1. 将细胞重悬在完全培养基中，使浓度为每毫升含 1~1.8E5 个细胞的单细胞悬液。48 孔板中每孔加入含待测样本的 250 μL 细胞悬液（含 2.5~4.5E4 个细胞）。

表格 2 不同底面积的孔板的细胞接种量参考

孔板	细胞浓度（个/mL）	接种细胞悬液体积（mL）	接种细胞数（个）
24 孔板	1~1.8E5	0.5 mL	5~9E4
48 孔板	1~1.8E5	0.25 mL	2.5~4.5E4
96 孔板	1~1.8E5	0.08 mL	1~1.5E4

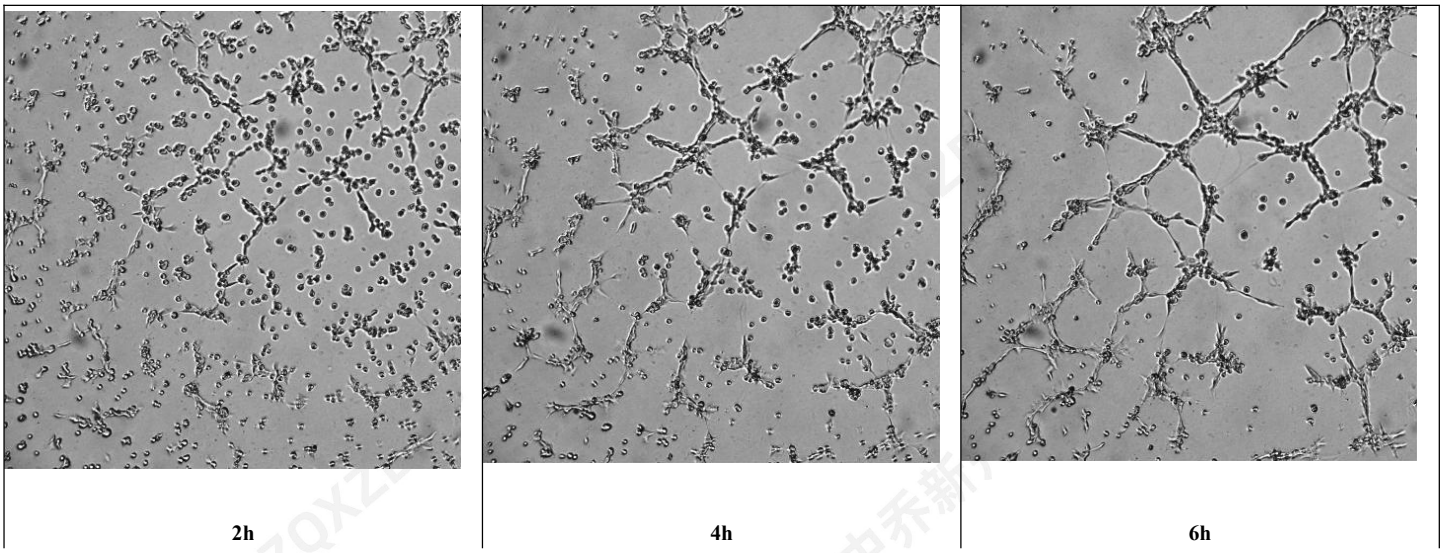
注意：细胞接种量会随着细胞代次增加而略有增加，建议先进行预实验进行摸索。

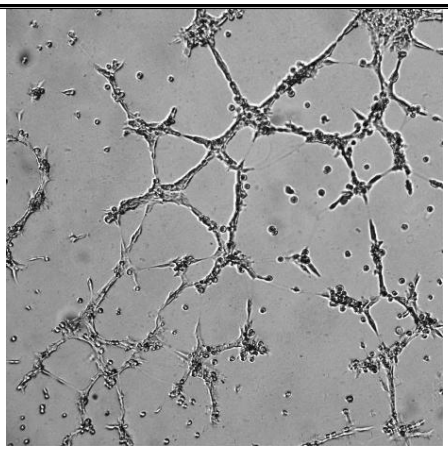
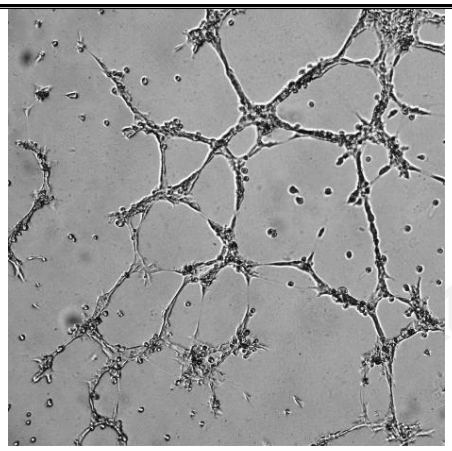
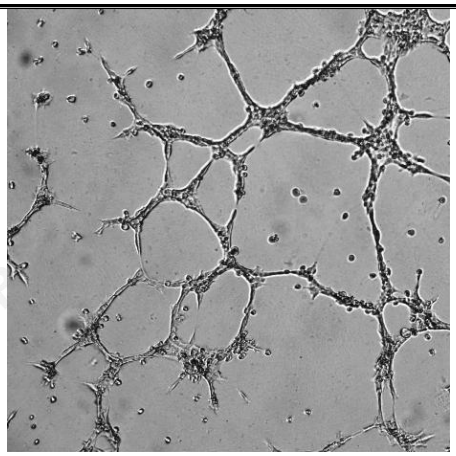
2. 将孔板置于 37 ℃，5%CO_2，90%湿度条件的培养箱培养。

注意：加入细胞时应从孔板中央部分缓慢滴入，避免碰触到凝胶表面

3. 在不同时间点拍照观察，一般 3-12 h 可见血管网络形成，成管时间与细胞状态密切相关，推荐 2~3 h 观察一次。

【附图 1 人脐静脉内皮细胞（HUVEC）不同时间点成管形态】



		
8h	10h	12h

产品使用注意事项

1. 血管形成实验专用基质胶在 22～35℃环境下可快速聚合凝胶。操作全程建议使用预冷的移液管、吸头、离心管等耗材。
2. 血管形成实验专用基质胶为工作浓度，使用前无需稀释。
3. 试剂盒内各组分不建议自行分装，避免试剂反复冻融，影响使用性能。
4. 请在产品有效期内使用，超期试剂禁止使用。本试剂盒所有组分均需避光保存。
5. 操作时请穿戴实验服与一次性手套，做好个人防护。

【企业质量体系】

上海中乔新舟生物有限公司已取得 ISO 9001、ISO 13485 医疗器械质量管理体系认证，全流程质量管控合规可靠。

【文献奖励】

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒（PCM-I-013)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供；
- 发表[英文论文]请标注：Human Umbilical Vein Endothelial Cell (HUVEC) Angiogenesis Kit (PCM-I-013)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

活动最终解释权归中乔新舟生物所有