

## 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)

### 细胞基本信息

细胞名称	<b>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)</b>
细胞品牌	<b>金少源生物</b>
种属来源	人
组织来源	脐静脉
生长特性	贴壁生长
细胞形态	内皮细胞样
细胞简介	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
特别注意	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。 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。 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。
生物安全等级	1
细胞代数	10 代以内
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
培养基	内皮细胞专用培养基
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
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
------	-------------------------------

## 细胞培养操作

<b>T25 瓶</b>	
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>a、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、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>c、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>d、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>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。</p> <p>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。</p>
<b>冻存管</b>	
收货处理	收到细胞后，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 6cm 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	<p>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；</p> <p>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。</p>

## 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，加 1 mL 血清重悬细胞，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 1 mL 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—管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

## 售后服务

### 细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
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。
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。
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。

### 细胞不予重发

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。

**备注:**

**金少源生物**客户在细胞培养过程中,有任何技术问题可以拨打免费服务电话 4008-723-722, 我们随时给予实验中的解答。