



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 ⁶ 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。</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。 不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	a、 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。



	<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>
冻存管	
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>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>
三、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，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 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$，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>c、将冻存管放入 -80°C 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"> 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。 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。