

# 人主动脉内皮细胞永生化

产品规格	>5×10 <sup>5</sup> 细胞数
包装规格	1ml 冻存细胞悬液或 T-25 培养瓶
培养体系	推荐使用原代内皮细胞培养体系

## 细胞详述:

主动脉内皮细胞 (aortic endothelial cells) 组成了主动脉内壁, 并持续受到血流剪切应力的影响。内皮细胞在切应力的作用下, 分泌不同的内皮因子并进而影响血管收缩和生长。主动脉内皮细胞也调节细胞黏附分子的表达来控制并精确调节炎症反应和组织纤维化。体外培养的原代主动脉内皮细胞可有效地帮助研究者研究内皮功能失调的机理, 动脉粥样硬化等疾病的发病机理以及发展新的治疗方法。

该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因。

## 细胞特性:

组织来源于人的正常主动脉组织。

细胞鉴定: 血小板-内皮细胞粘附分子 (PECAM-1/CD31) 或血管假性血友病因子 (vWF) 免疫荧光染色为阳性。

经鉴定细胞纯度高于 90%。

不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌。

细胞生长方式: 上皮样, 多角形细胞, 贴壁培养。

## 细胞复苏、传代与冻存操作流程

### 一、仪器与试剂

仪器, 试剂, 耗材, 离心机, 胎牛血清 (FBS), 离心管 (15ml、50ml), 生物安全柜, 无菌 1×PBS pH=7.2, T-25 细胞培养瓶, 电动移液器, 0.25%胰蛋白酶+0.02%EDTA

一次性无菌移液管 (2ml、5ml、10ml)

CO<sub>2</sub> 培养箱

完全培养基 (含血清)

1.8mL 冻存管

倒置显微镜

冻存液: 90%FBS+10%DMSO

程序降温盒

液氮罐

异丙醇

恒温水浴锅

超低温冰箱

护目镜、厚毛线手套等

## 二、操作流程

### 复苏

- 1) 将恒温水浴锅中的水预热到 37℃；
- 2) 准备一支 15ml 离心管，加入 5ml 含 10%FBS 的完全培养基，放入 37℃ 水浴锅中预热；
- 3) 戴上护目镜，厚毛线手套后，从液氮罐中取出要复苏的细胞，尽快转入 37℃ 恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率；
- 4) 将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中，混匀后，1000rpm 离心 5min；
- 5) 准备一个 T-25 培养瓶，写上细胞名称、日期，再加入 4ml 完全培养基；
- 6) 离心完成后弃去上清，用 1ml 完全培养基重悬细胞后，转入 T-25 细胞培养中，混匀后转入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养静置。

**注意：从液氮中取出细胞冻存管时，若冻存管内有液氮进入，需拧松冻存管，排出内部残留的液氮，之后拧紧冻存管，置于干冰上，然后放入 37℃ 水浴中，避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。**

### 传代（细胞传代建议一传二）

- 1) 当细胞汇合度达到 85% 以上时，可进行传代。
  - 2) 在生物安全柜内，打开培养瓶瓶口，收集瓶内的培养基；
  - 3) 向培养瓶内加入 3ml 无菌的 1×PBS 后，水平放置培养瓶，使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积，吸弃 PBS；
  - 4) 向瓶内加入消化液 1ml，浸润底面后放入 37℃ CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 1~2min；
  - 5) 孵育完成后在倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起，若全部消化下来则直接向培养瓶内加入 2ml 含 10%FBS 的完全培养基中，将悬液吸入 15ml 离心管；
- 注：如还有部分细胞未消化下来，可采用分步消化：
- ① 准备一个无菌的 15ml 离心管，加入 2ml 含 10%FBS 的完全培养基；
  - ② 将消化下来的细胞吸入①中的离心管内中和（避免吹打）；
  - ③ 向之前消化的培养瓶中加入 1ml 胰酶继续消化 2min 左右，轻拍培养瓶，95% 左右细胞脱落
- 落后加入 2ml 含 10%FBS 的完全培养基中和，中和后的细胞悬液移入①中的离心管内。
- 6) 1000rpm 离心 5min；
  - 7) 准备两个新的 T-25 培养瓶，各加入 4ml 完全培养基。
  - 8) 离心完成后，弃上清，用 2ml 完全培养基重悬离心细胞，将重悬后的细胞转入 2 个 T-25 培养瓶，每个培养瓶各 1ml；
  - 9) 水平放置培养瓶，震荡混匀后，将培养瓶置于 37℃, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中静置培养。

### 冻存（细胞冻存建议每瓶 T25 冻一支）

- 1)~6) 参照传代步骤
- 7) 离心完成后，弃上清，用 1ml 冻存液重悬细胞沉淀，然后转入 1.8ml 冻存管中；
- 8) 将冻存管转入填充满异丙醇的程序降温盒中，之后转入 -80℃ 冰箱中过夜降温；
- 9) 第二天，取出降温完成的序降温盒中的冻存管，尽快转入液氮罐中保存。