

HULEC-5a

产品描述

种属：人源 (*Homo sapiens*)

组织来源：肺 (Lung)

疾病：未知 (Unknown)

年龄：未知 (Unknown)

性别：男 (Male)

细胞类型：内皮样细胞 (Endothelial-like)

生长特性：贴壁生长 (Adherent)

拆包 & 存储

1. 请立即检查包装袋是否有破损或漏液
2. 请立即将细胞培养瓶从包装盒中取出，并按照下方操作步骤进行培养传代

注意：如为冻存管，请收到后立即解冻培养。若来不及解冻，请储存于液氮中（存储于负 80 度，会降低细胞存活率）

培养瓶中细胞操作步骤

对于贴壁培养的细胞，寄送前，我们会将**运输培养基**充满整个培养瓶，以减少产品运输过程中贴壁细胞的脱落。（收到后请使用**新鲜完全培养基**培养）

1. 收到细胞产品后，请注意观察是否有污染。将培养瓶置于倒置显微镜下仔细检查是否浑浊、是否细菌污染。因在运输过程中存在颠簸，且有些细胞对温度变化也很敏感，可能存在一些细胞脱落漂浮的情况，这些细胞仍是活细胞，请勿丢弃，可离心富集后传代使用。
2. 对于贴壁的细胞，在生物安全柜环境中，用真空泵去除培养瓶中的多余培养基，至剩余 5-8mL 左右，随后将细胞置于含有 5%CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱中培养，拧松瓶盖。如果细胞已经长满培养瓶请立即传代。
3. 对于悬浮的细胞，在生物安全柜环境中，转移培养瓶中的细胞至离心管中，离心 200×g / 5 - 10 min，去除上清后，用 5 mL 培养基吹散细胞，转移至新的培养瓶中，随后置于含有 5%CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱中培养。

冻存细胞操作步骤

注意：为保存细胞的高存活率，请收到产品后，立即解冻培养。

1. 将冻存管置于 37℃ 水浴中来回晃动，迅速解冻。为避免污染，确保冻存管口置于水面之上。解冻需迅速，大约 2 分钟。
2. 一旦冻存管中液体融化后，立即取出，采用 70%酒精喷拭冻存管表面。从此步开始，后续操作须在生物安全柜中完成。



3. 将冻存管中的液体转移到含有 5mL 完全培养基的离心管中，离心 $200\times g$ / 5 - 10 min，用真空泵去除含有冻存液的上清。
4. 用完全培养基重新悬浮细胞并转移到新的培养瓶中。为保证细胞复苏的存活率，请将培养基在 37℃ 水浴预热后使用。
5. 将细胞置于含有 5%CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱中培养。

贴壁细胞传代培养

1. 吸取并弃掉培养瓶中培养基，加入 PBS 清洗一次。
2. 加入 1.0 mL 0.25 (w/v) Trypsin-0.53mM EDTA 溶液，并置于 37 °C 培养箱中孵育，直至细胞从壁上脱落分离。此过程大约需要 3 至 5 分钟（此处为 12.5 cm² 培养瓶所用体积，可根据实际情况增减用量）。
3. 加入 2mL 完全培养基中和胰蛋白酶，并轻轻吹打将细胞从培养瓶表面吹落，并使细胞分散。
4. 离心 $200\times g$ /5 min，去除上清后，取适量的培养基将细胞重悬，取适量悬液置于新的培养瓶中，并加入新鲜细胞完全培养基至总体积为 4mL。
5. 将细胞置于含有 5%CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱中培养。

传代比例：建议 1:2（以培养瓶底面积计算）

培养基换液：每隔 2 至 3 天。

注意：培养板需预先进行包被（包被液组分为：0.15mg/ml Rat tail type-I collagen solution）

培养板包被：

- 1、准备配置好上述包被液组分（4℃ 可放置 1 个月）。
- 2、向培养板中加入包被液，轻轻晃动至培养板底部全部覆盖均匀（75cm² 底面积，需加入 4.5mL 包被液）。
- 3、将培养板置于室温，孵育 1h。
- 4、使用前，将包被液吸走，PBS 洗涤一次。

细胞冻存液

离心收集细胞后，加入适量冻存液（每管细胞冻存量达到 10 的 6 次方），将冻存管放入冻存盒置于负 80 冰箱，24h 后将冻存管转入液氮长期保存。

完全培养基配制

该细胞系培养所用基本培养基为 MCDB131 Medium，配置完全培养基时 需加入 10%FBS，10ng/mL Epidermal Growth Factor (EGF)，1 μg/mL Hydrocortisone，10 mM Glutamine，1%Anti-ti-Anti。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

