

人肝窦内皮细胞永生化

一、细胞简介

细胞简介	肝窦内皮细胞是肝脏非实质细胞中数目最多的细胞，约占肝非实质细胞总数的 70%，在表型、功能上与普通毛细血管内皮细胞有较大差异。肝窦内皮细胞之间缺乏细胞间连接，细胞下基底膜物质很少，因此窦内皮通透性较高，有利于调节物质交换。
	不同于肝细胞的自我复制，肝再生时新生 LSECs 主要来自肝内外其他细胞成分的分化替代，不少研究证实了肝再生时 LSECs 的骨髓源性替代。内皮祖细胞是参与这一过程的主要细胞成分。窗孔是肝窦内皮细胞最具特征性的结构，从<10nm 至 1~2 μm 不等，生理条件下由于窗孔结构的存在和缺乏内皮下完整基膜的结构，由肝窦内皮细胞构成的肝窦壁是全身毛细血管壁中唯一缺乏基膜的毛细血管，除窦内的血细胞外，血浆成分均能从窗孔进入 Disse 间隙，进行物质交换。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 SV40 基因（转染后此细胞带有嘌呤霉素抗性）。

细胞名称	人肝窦内皮细胞永生化		
细胞别称	Immortalization of human sinusoidal endothelial cells		
细胞货号	Delf-11539		
来源	人；正常肝		
细胞形态	上皮样，多角形细胞		
生长特性	贴壁生长		

培养条件	推荐使用人肝窦内皮细胞永生化专用培养基（货号：Delf-15964）培养该细胞。			
	名称	体积	浓度	保存条件
	人肝窦内皮细胞永生化基础培养基	465ml	1×	4℃、避光
	人肝窦内皮细胞永生化培养添加剂	5ml	100×	-20℃、避光
	胎牛血清（FBS）	25ml	终浓度 5%	-20℃、避光
	双抗（青霉素/链霉素，P/S）	5ml	100×	-20℃、避光
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，培养箱湿度为70%-80%。			

二、细胞复苏方法

复苏步骤	1、将冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻；
	2、加入到含 4ml 常规培养基（含 10%FBS）的离心管中混合均匀；
	3、在 1000RPM 条件下离心 5min，弃去上清液， 完全培养基 重悬细胞；
	4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的 T25 培养瓶（或 6cm 皿）中 37℃培养箱培养；

三、细胞传代方法

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基； 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次，吸走润洗的 PBS； 3、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)； 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 2min 左右 (不同胰酶，消化时间不同，要根据细胞脱落情况，在进行终止消化)； 5、轻轻侧拍 T25 培养瓶镜下观察，消化到细胞脱落在胰酶当中后，加入 2-3ml 含 10%FBS 的常规培养基终止消化； 6、1000rpm 离心 5min，收集到 15ml 离心管中加 2ml 该细胞完全培养基，重悬细胞时，在离心管中轻轻吹打，把细胞混匀； 7、按 1:2 分配到新的 T25 培养瓶中，添加 4-5ml 完全培养基放回 37°C 培养箱；
注意事项	不同品牌胰酶差异大，请注意消化时间

四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用原代细胞无血清冻存液 Delf-11614 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml (本公司是 1 个 T25 培养瓶长满冻存 1 支冻存管)； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；

五、注意事项

注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、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。		
细胞培养清除试剂	1、DEL福培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DEL福水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DEL福细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DEL福黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DEL福支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027		

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

