人肝窦内皮细胞永生化

Immortalization of human sinusoidal endothelial cells

【产品货号】

货号：SB-HU4084

规格：T25 培养瓶或者 1 mL 冻存管包装

【储存条件】

T25瓶:观察好细胞状态后，75 %酒精消毒T25瓶外壁，将T25瓶置于37°C培养箱放置2-4 h，以便稳定细胞状态后传单；冻存管：收到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏

【细胞详情】

种属	人
组织来源	正常肝组织
传代比例	1:2传代
完全培养基配置	基础培养基500 mL；生长添加剂5 mL；胎牛血清25 mL；双抗5 mL
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1～2μm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。
形态	上皮细胞样，多角形细胞样
生长特征	贴壁生长
细胞	血管假性血友病因子（vWF）免疫荧光染色为阳性免疫荧光鉴定，细胞纯度可达90%以上，不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
倍增时间	每周 2 至 3 次
换液频率	2-3天换液一次
培养条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37°C，培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液：90%FBS，DMSO 10%,
备注	人肝窦内皮细胞永生化该细胞通过慢病毒转染的方式携带TERT基因。

【常温细胞收货当天处理方式】

1 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。

2 镜下观察有无微生物污染现象，拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象，方便后续售后处理。

3 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代，请根据实际情况决定)，首次传代推荐比例 1：2 到 1：3（按实际收货细胞密度决定，若不确定可联系技术支持）；若细胞密度不到 80%则可继续培养，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖；

悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。

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 6 cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10 cm 皿】

4　由于气温，运输等影响造成贴壁细胞漂浮的，请将细胞离心收集后在离心管中消化后进行传代，或及时联系技术支持进行指导传代。

【贴壁细胞传代】

1　从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃；

2　从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次；

3　从培养容器中吸出冲洗液并丢弃，向培养瓶中加入预热的胰酶；胰酶量应足以覆盖细胞层(T25为1ml)

4　将培养容器在室温下孵育约2分钟（请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差异）；

5　在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达90 %，可将孵育时间延长几分钟，每30秒钟检查一次解离情况；

6　细胞解离程度大于等于90 %时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；

7　将细胞转移到15 mL无菌离心管中，以200 × g的离心力离心3-5 分钟（请注意离心速度和时间依细胞种类不同而差异）；

8　用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱（注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖）。

【悬浮细胞传代】

将T25培养瓶中的悬液收集至离心管中1000 rpm离心5 min，收集上清，加1-2 ml完全培养基重悬，按1:2比例进行比例传代分到新T25瓶中，补充5-8 ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养。

【相关产品】

圣尔生物为您提供细胞培养实验相关产品！

产品编号	名称	包装
SB-C101	无血清/无蛋白细胞冻存液	100 mL/10 mL/50 mL
FSP500	Fetal Bovine Serum(Prime) 胎牛血清	500 mL
SB-CR011	青霉素-链霉素双抗（100 ×) Penicillin-Streptomycin Solution	100 mL/500 mL
SB-R017	PBS (细胞培养级)	500 mL
SB-C002	高糖 DMEM	500 mL
SB-GN1110	基质胶 matrigel (标准型，不含酚红)	5*1 mL
SB-CR013	胰酶(胰蛋白酶) （EDTA，0.25 %）Trypsin-EDTA Solution	100 mL/500 mL
技术服务	细胞基因敲除/过表达服务	

本产品仅供科研使用。