



## 人肝窦内皮细胞永生化说明书

货号 VCH00687

### 一、产品信息：

**中文名称：**人肝窦内皮细胞永生化

**细胞形态：**上皮样，多角形细胞，贴壁生长

**细胞描述：**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  $<10\text{nm}$  至  $1\sim 2\mu\text{m}$  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）。

**物种：**人

**组织来源：**正常肝组织

**完全培养液配方：**内皮细胞专业培养基

**培养条件：**气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃

**传代周期：**2-3 天（根据实际生长速率调整）

**传代比例：**1:2

**换液频率：**2-3 天

**冻存液配方：**完全培养液 95%，DMSO 5%





## 二、细胞接收后的处理：

### 1 核对信息和检查包装

收到细胞后，请先核对细胞培养瓶或冻存管上标注的细胞名称是否与所订购的细胞名称一致，若发现培养瓶破损、有液溢出或干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。

### 2 冻存细胞：

在确认包装完整（干冰）标签无误后，请将收到的细胞冻存管转移至 $-80^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱或液氮罐中保存，并尽快安排复苏。

（1）请严格按照说明书中推荐的培养条件复苏细胞（如有任何疑问请联系我们）

（2）若第一支细胞复苏后出现异常，请在与我们取得联系之前，切勿再复苏第二支。

### 3 复苏细胞：

核对细胞信息无误和包装完整之后，请进行如下操作：

（1）用 75%酒精棉球仔细擦拭 T25 细胞培养瓶外部两次。不要打开培养瓶盖，在显微镜下确认细胞是否污染并拍照留存（若污染请及时联系我们），然后将细胞放入  $37^{\circ}\text{C}$  培养箱中静置 2-3 小时以稳定细胞状态（细胞因沿途运输或温度较低而出现皱缩等现象，属正常情况）。

（2）静置结束后，取出培养瓶在  $4\times$  或  $5\times$  显微镜下再次确认细胞状态，同时给细胞（ $10\times$ ， $20\times$ ）镜下各拍照 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为后续服务的重要依据（建议细胞收到后前 1-2 周定期拍照，记录细胞生长状态）。

（3）贴壁细胞首次传代：细胞在  $37^{\circ}\text{C}$  培养箱中放置 2-3h 后，若镜下观察细胞的生长密度在 60%以下，吸去培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基 5mL，放回培养箱中继续培养；若细胞生长密度达 70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若有因运输振动脱落的细胞则需要离心回收。





### 三、细胞复苏

- 1、从液氮中取出细胞冻存管，快速将其置入 37°C 水浴中摇晃解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75% 的酒精擦拭冻存管外壁，转移至操作台。
- 2、将冻存管中的细胞移至含 2mL 完全培养基的 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，沉淀用 1-2mL 完全培养基重悬，接种至 T25 培养瓶，于 37°C,5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

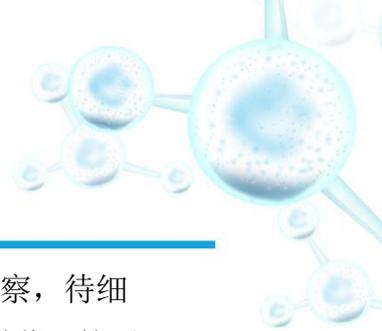
### 四、细胞传代

- 1、当细胞生长至覆盖培养瓶的 80-90% 面积时可以传代操作，先吸去原培养液，再用 PBS 清洗 1-2 次，轻轻晃动瓶身使 PBS 充分接触细胞。细胞清洗后将 PBS 吸干净。
- 2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1mL 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 2mL 完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，沉淀细胞用 1-2mL 完全培养基重悬，然后按需要的比例进行分瓶传代，补充新的完全培养基至细胞培养瓶（约 5mL 左右），最后放入 37°C,5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

### 五、细胞冻存

- 1、当细胞生长至覆盖培养瓶的 80-90% 面积时可以冻存，先吸去原培养液，再用 PBS 清洗 1-2 次，轻轻晃动瓶身使 PBS 充分接触细胞。细胞清洗后将 PBS 吸干净。





- 2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1mL 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 2mL 完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，细胞沉淀加入 1mL 配好的细胞冻存液，重悬后加入冻存管中。
- 4、将冻存管放入程序冻存盒（每分钟降 1℃）转移至-80℃冰箱过夜；次日转移至液氮长期保存。

## 六、声明

本库的细胞系（株）仅用于科研，不得用于诊断治疗。

