

HHVEC细胞；肝瘤血管内皮细胞

一、基本信息	
细胞名称	HHVEC细胞；肝瘤血管内皮细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25培养瓶
细胞简介	该肝瘤血管内皮细胞由江蓝纯生物制备并提交，可用于基础研究和科研使用
细胞英文	HHVEC细胞
种属来源	人
组织来源	肝
支原体检测	阴性
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
传代方法	1：2至1：6，每周2次
生长条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃
培养基	DMEM培养基，90%；FBS，10%
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO，液氮储存
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途
二、接受后处理	
处理1	收到细胞后，请检查是否漏液，如果漏液，请拍照片发给我们
处理2	请先在显微镜下确认细胞生长状态，去掉封口膜并将T25瓶置于37℃培养约2-3h
处理3	弃去T25瓶中的培养基，添加 6ml本公司附带的完全培养基
处理4	如果细胞密度达80%-90%请及时进行细胞传代，传代培养用6ml本公司的完全培养基
处理5	接到细胞次日，请检查细胞是否污染，若发现污染或疑似污染，请及时与我们取得联系
三、细胞操作	
复苏细胞	将含有1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入4mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心4分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入10cm皿中，加入约8ml培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。
细胞传代	如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养： 1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。 2. 加 1ml消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。 3. 按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在1000RPM条件下离心4分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

	4. 将细胞悬液按 1: 2 比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。
细胞冻存	待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:
	1. 细胞冻存时, 弃去培养基后, PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入1ml含血清的培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。
	2. 4 min 1000rpm离心去掉上清。加1ml 血清重悬细胞, 根据细胞数量加入血清和 DMSO, 轻轻混匀, DMSO终浓度为10%, 细胞密度不低于 $1 \times 10^6$ /ml, 每支冻存管冻存1ml 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。
	3. 将冻存管置于程序降温盒中, 放入 -80度冰箱, 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。
注意事项	1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好, 培养液是否有漏液、浑浊等现象, 若有上述现象发生请及时和我们联系。
	2. 仔细阅读细胞说明书, 了解细胞相关信息, 如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等, 确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题, 责任由客户自行承担。
	3. 用75%酒精擦拭细胞瓶表面, 显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落, 将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时,再取出观察。此时多数细胞均会贴壁, 若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力, 如果证实细胞活力正常, 请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养; 如果染色结果显示细胞无活力, 请拍下照片及时和我们联系, 信息确认后我们为您再免费寄送一次。
	4. 静置细胞贴壁后, 请将细胞瓶内的培养基倒出, 留 6~8mL 维持细胞正常培养, 待细胞汇合度 80%左右时正常传代。
	5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养, 培养瓶内多余的培养基可收集备用, 细胞传代时可以一定比例和客户自备的培养基混合, 使细胞逐渐适应培养条件。
四、细胞备注	
备注1	建议客户收到细胞后前3天各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 便于本公司技术部沟通交流。
备注2	如果细胞在运输中出现问题, 可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时和我们联系, 告知细胞的具体情况, 以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
备注3	江蓝纯生物客户在细购买细胞过程中各种问题, 可以随时拨打免费服务电话021-54720761, 我们随时给予实验中的解答。
五、售后服务	
细胞予重发	1. 细胞运输中遭遇的各种问题, 细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等, 重发。
	2. 收到细胞未开封, 如出现污染状况, 重发。
	3. 收到细胞3天内, 发现污染问题, 经核实后, 重发。
	4. 常温发货的细胞静置2小时后, 干冰冻存发货的细胞复苏2天后, 绝大多数细胞未存活, 经核实后, 重发。
	5. 常温发货的细胞静置22小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏2天后, 出现污染, 经核实后, 重发。
	6. 细胞活性问题, 请在收到产品3天内给我们提出真实的实验结果, 用台盼蓝染色法鉴定细胞活力, 经核实后, 重发。

细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前3天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于3天的，不重发。