

HyCyte®人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒

Human Umbilical Vein Endothelial Cell Angiogenesis Kit

货号：GUTK-R002

规格：10 T（适用于 48 孔板）

产品组分

试剂盒组分	规格	保存条件	有效期
HUVEC Basal Medium HUVEC 基础培养基（货号：GUMD-B310）	100 mL	2~8°C，避光	12 months
Matrigel 血管形成实验专用基质胶（货号：GUTK-R002-01）	2 mL	-20°C，避光	12 months
Angiogenesis Staining Solution 血管形成染色液（货号：GUTK-R002-02）	10 µL	-20°C，避光	12 months

注意：本试剂盒仅适用于科学研究。

产品介绍

HyCyte®人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒为 HUVEC 原代细胞和 HUVEC 细胞系的血管形成实验专门研发。

HyCyte® 人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验试剂盒通过生物安全检测 and 产品质量检测，体系稳定有效，现货发送，性价比高。海星生物专业研发团队可提供有效技术指导，保证售后品质。

运输方式

血管形成实验专用基质胶、血管形成染色液采用干冰运输；HUVEC基础培养基采用低温运输。

质检标准

生物安全：细菌/真菌/支原体检测阴性。

质量测试：HUVEC成管实验测试成管良好。

产品使用注意事项

- 1) 血管形成实验专用基质胶干冰运输，收到血管形成实验专用基质胶为固态，4°C过夜解冻后即可按照单次用量进行分装，避免反复冻融。不使用时不推荐4°C长期保存，需在-20°C保存。
- 2) 血管形成实验专用基质胶在22-35°C时会快速聚合成胶。推荐操作时使用预冷的移液管、吸头和离心管等耗材。
- 3) 血管形成实验专用基质胶已经为工作浓度，使用时无需进行稀释。
- 4) 血管形成染色液是一种对活细胞进行荧光标记的细胞染色试剂，发绿色荧光（Ex=490 nm，Em=515 nm）。在血管形成实验中通常用于呈现更好的图片效果，可根据实验需要选择是否进行染色步骤。

为科研加速，为工业赋能！



海星商城二维码



公众号二维码

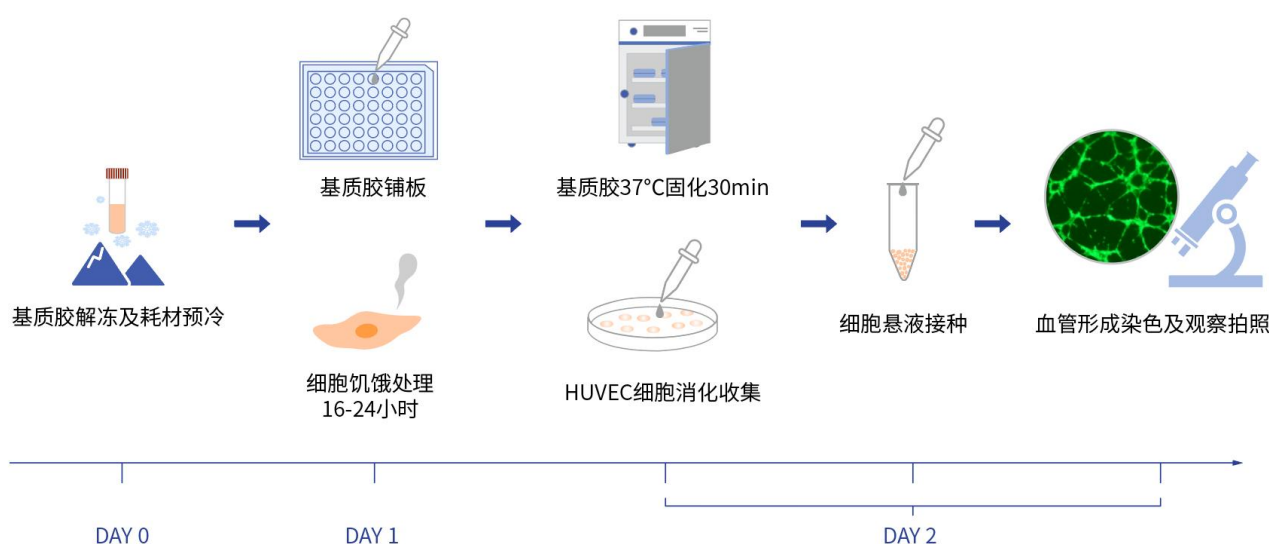


- 5) 为了更好的使用效果，请勿对试剂盒中任何试剂进行分装使用，避免反复冻融。
- 6) 请在保质期内使用产品，超过保质期，请勿使用。
- 7) 所有产品避光保存。
- 8) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验原理

HUVEC血管形成法是公认的体外血管生成测定法，基于内皮细胞在生长因子减少的基底膜提取物凝胶上培养时形成三维毛细管状的管状结构，判断其成血管的能力。实验过程中，HUVEC会随时间的推移最终形成管状多边形网络。

附图 1 人脐静脉内皮细胞（HUVEC）血管形成实验流程图



产品使用说明

实验应在局部百级洁净环境（如生物安全柜）中进行，请注意无菌操作；细胞成管效果与代次相关，推荐使用较低代次的细胞进行实验。

1 基质胶解冻及耗材预冷

- 1) 提前1天将血管形成实验专用基质胶置于4°C冰箱中过夜解冻。

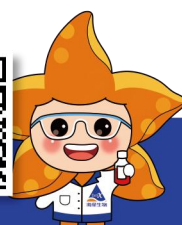
为科研加速，为工业赋能！



海星商城二维码



公众号二维码



- 2) 第二天需要使用的无菌孔板及枪头移液管等放置在4℃冰箱中过夜预冷。也可当天提前1-2 h置于

注意

- ①由于基质胶对温度及其敏感，因此推荐置于冰盒上解冻，解冻过程中请勿拿出，避免基质胶再凝固。
②请将所用的耗材放置于4℃冰箱靠里处，勿放置于开门位置，不建议放置在本身温度较高或者温度不稳定的冰箱中。
-20℃冰箱中预冷。

2 基质胶铺板及细胞饥饿处理

- 1) 将解冻好的基质胶放至在冰上，翻转几次以混合内容物后，取出预冷完全的孔板，使用预冷完全的移液管或枪头吸取基质胶，48孔板中每孔加入150~200 μL，可根据实际情况调整用量。

表格 1 不同底面积的孔板的基质胶参考使用量

孔板	孔板底面积 (cm ²)	基质胶用量 (μL)
96 孔板	0.32	50~80
48 孔板	0.95	150~200
24 孔板	2	300~400

- 2) 将铺好的孔板放置在4℃冰箱在平整状态下孵育过夜，使血管形成实验专用基质胶形成凝胶并自流平。

注意

加入血管形成实验专用基质胶时应缓慢轻柔滴加，枪头内最后一点可不加入，避免出现较多气泡，大气泡可使用预冷后的枪头小心戳破，小气泡孵育过夜后会基本消失。

- 3) 将处于对数生长期的HUVEC细胞进行采用HUVEC基础培养基进行饥饿处理16-24 h。

3 血管形成实验专用基质胶固化及 HUVEC 细胞消化收集

- 1) 将4℃的铺好血管形成实验专用基质胶的孔板提前放置在37℃培养箱中固化30 min。
2) 对饥饿处理后达到80%融合的HUVEC细胞进行消化，离心，计数。

注意

- ①此过程不要取出孔板并摇晃，会导致凝胶的不均匀；凝胶形成后先观察凝胶的形成状态，确保凝胶表面是平整均匀的状态后再进行实验。
②计数后的细胞活率应尽量高于90%，活率越高，成管效果越好。

4 细胞悬液接种

- 1) 将细胞重悬在完全培养基中，使浓度为每毫升含2~3E5个细胞的单细胞悬液。48孔板中每孔加入含待测样本的200 μL细胞悬液（含4~6E4个细胞）。

为科研加速，为工业赋能！



海星商城二维码



公众号二维码



表格 2 不同底面积的孔板的细胞接种量参考

孔板	细胞浓度	接种细胞数	接种细胞体积
48 孔板	2~3E5	4~6E4	200 μ L
24 孔板	4~6E5	8~12E4	400 μ L
96 孔板	0.7~1E5	1~2E4	50 μ L

注意：细胞接种量会随着细胞代数增加而略有增加，建议先进行预实验进行摸索。

- 2) 将孔板置于37 $^{\circ}$ C，5%CO₂，90%湿度条件的培养箱培养。

注意

- ①加入细胞时应从孔板中央部分缓慢滴入，避免碰触到凝胶表面。
- ②孔板间隙加入适量1 $\times$ PBS，防止培养过程中凝胶过度蒸发。

5 血管形成染色及观察拍照

- 1) 在不同时间点拍照观察，一般3-12 h可见血管网络形成，成管时间与细胞状态密切相关，推荐2~3 h观察一次。
- 2) 如需染色，需在成管状态最好的时间点进行染色，一般为6~8 h，需根据实际成管状态进行判断。
- 3) 将血管形成染色液从-20 $^{\circ}$ C取出，解冻后充分混匀，按1:4000 (v/v) 比例用1 $\times$ PBS或HUVEC基础培养基配制工作液。具体方法为：取1 μ L染色液原液加入4 mL稀释液中，充分混匀后使用。

注意

可根据染色效果优化染色液稀释比例，最高可使用1:1000稀释配置工作浓度，浓度越高，染色时间越短。

- 4) 吸去表面培养基，使用常温1 $\times$ PBS轻柔清洗1~2次，清洗后48孔板每孔加入150 μ L稀释后的血管形成染色液，避光37 $^{\circ}$ C孵育30 min。
- 5) 吸去染液，1 $\times$ PBS轻柔清洗1~2次，在显微镜绿色荧光下 (Ex=490 nm, Em=515 nm) 可明显看到管状结构。

注意

- ①1 $\times$ PBS添加清洗时沿孔壁缓慢添加，避免冲破细胞网络。
- ②在培养的的第一个小时，不要摇动平板或将其从细胞培养箱中取出。显微镜观察拍照时，尽量缩短孔板在外界的时间。染色过程需小心谨慎，注意吸取培养基时不要碰到底面细胞网络及凝胶。
- ③染液原液需避光保存，不可反复冻融；稀释后的染色液储存时间过长会导致染液有效成分降解，建议现配现用，若当天需多次使用可短暂置于4 $^{\circ}$ C避光保存。

附图 2 人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 血管形成实验参考

2 h-40X	4 h-40X	6 h-40X
---------	---------	---------

为科研加速，为工业赋能！

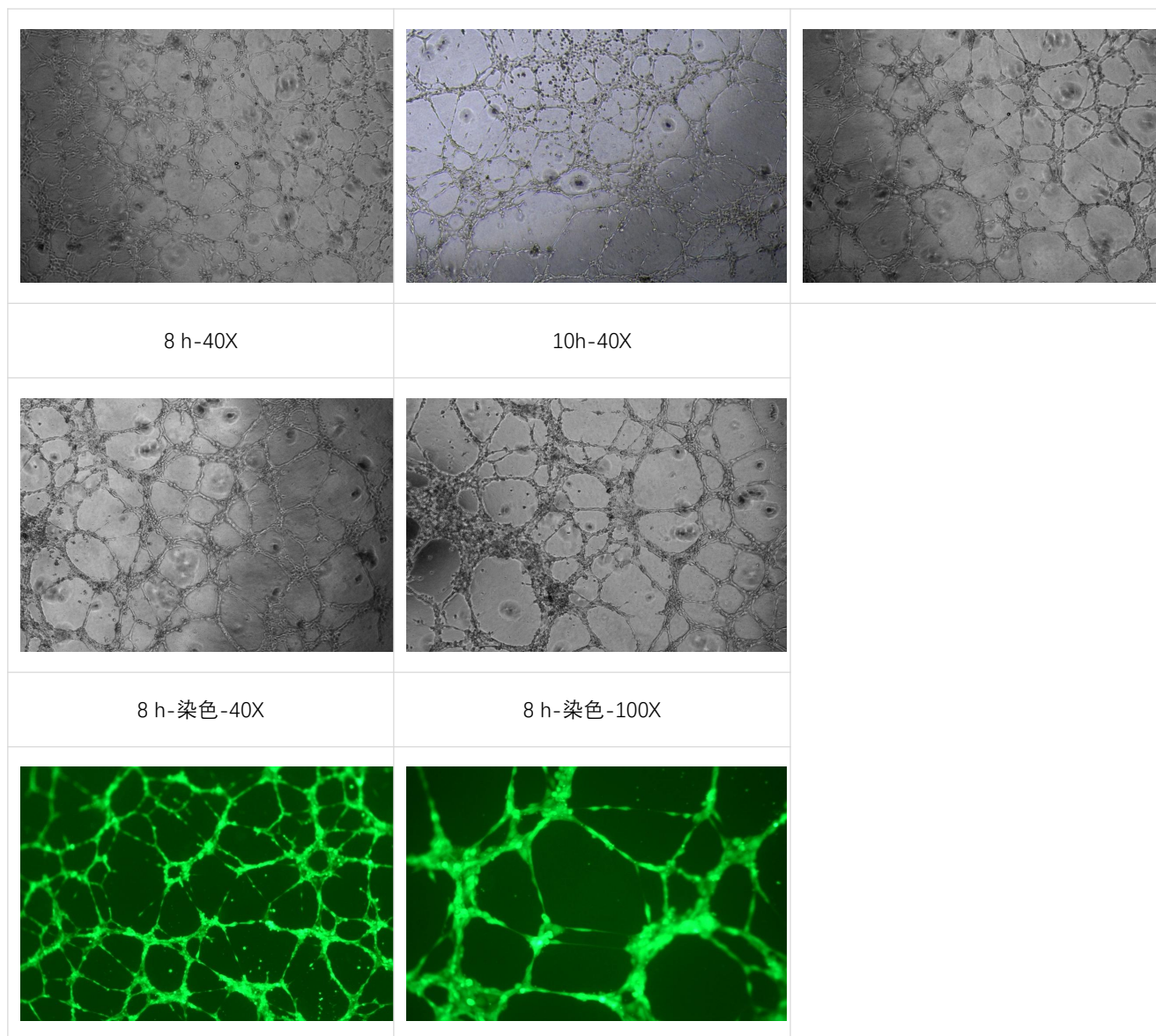


海星商城二维码



公众号二维码





相关产品

产品名称	规格	货号
人脐静脉内皮细胞系(HUVEC 细胞系)完全培养基	125mL / 500mL	TCH-G406
人脐静脉内皮细胞系(HUVEC 细胞系)完全培养基 ("黑胶虫"预防版)	500mL	TCH-G406-C
人脐静脉内皮细胞(HUVEC 原代)完全培养基	125mL / 500mL	PAHX-C131
人脐静脉内皮细胞(HUVEC 细胞系+完培)套装	细胞系 HUVEC+125mL 完培	TCH-C406+TCH-G406-125

为科研加速,为工业赋能!

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

稳转细胞株 HyCyte®干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte®细胞培养试剂



海星商城二维码



公众号二维码



人脐静脉内皮细胞(HUVEC 细胞系+完培)套装	细胞系 HUVEC+500mL 完培	TCH-C406+TCH-G406-500
人脐静脉内皮细胞(HUVEC 原代+完培)套装	原代 HUVEC+125mL 完培	PAHX-C131+PAHX-G131-125
人脐静脉内皮细胞(HUVEC 原代+完培)套装	原代 HUVEC+500mL 完培	PAHX-C131+PAHX-G131-500
HyCyte [®] 胰蛋白酶-EDTA 消化液	50 mL	GUTP-R002
1×PBS 缓冲液(pH7.2~7.4) 无钙镁离子	500mL	GUPB-R001

为科研加速，为工业赋能！



海星商城二维码



公众号二维码



CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

稳转细胞株 HyCyte[®]干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte[®]细胞培养试剂