



CypressDream

人脑微血管内皮细胞（永生化） HCMEC/D3

产品基本信息

种属来源：人
组织来源：脑
细胞形态：梭形细胞
生长特性：贴壁生长
培养基：EBM-2 内皮基础培养基+5% FBS+bFGF+氢化可的松+抗坏血酸+HEPES+1%PS
生长条件：气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
传代方法：每周传代 2 次，按 25000 cells/cm² 接种于胶原I包被皿
冻存条件：无血清冻存液，液氮储存
支原体检测：无

细胞培养操作

- 1) 复苏细胞：将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。
- 2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。
 - a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
 - b、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃培养箱中消化 1-3min（视细胞消化情况而定），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。按 6-8 mL/瓶补加培养基，轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 4 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。
 - c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。
- 3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例：
 - a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。
 - b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
 - c、将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。



CypressDream

培养注意事项

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，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置 2-4h。
4. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
5. 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，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，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。
6. 该细胞仅供科研使用。
7. 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1:2 传代。
8. 注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。