

hCMEC/D3 细胞 ; 永生化人脑微血管内皮细胞

细胞基本信息

| | |
|------|---|
| 细胞名称 | <u>hCMEC/D3 细胞 ; 永生化人脑微血管内皮细胞</u> |
| 细胞品牌 | 金少源生物 |
| 细胞规格 | 1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶 |
| 细胞英文 | HCMEC/D3 ; CMEC/D3 |
| 细胞简介 | hCMEC/D3 细胞系来源于人类颞叶微血管，该微血管来源于癫痫控制手术中切除的组织。原代分离物富含脑内皮细胞（CECs）。在第一代中，以人端粒酶（hTERT）催化亚基和 SV40 大 T 抗原为载体，通过慢病毒载体转导，使细胞连续永生化，然后用有限稀释克隆法选择性地分离 CEC，并对克隆的脑内皮表型进行了广泛的鉴定。这种脑微血管内皮细胞系代表了一种易于生长的人血脑屏障模型，可用于与中枢神经系统（CNS）相关的病理和药物转运机制的细胞和分子研究。 |
| 种属来源 | 人 |
| 组织来源 | 脑 |
| 患者性别 | 女 |
| 细胞形态 | 上皮细胞样 |
| 生长特性 | 贴壁生长 |
| 培养基 | RPMI-1640, 90%; FBS, 10% |
| 生长条件 | 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37 °C |
| 传代方法 | 1: 3 至 1: 6, 每周 2 次 |

| | |
|-------|-----------------------|
| 冻存条件 | 95% 培养基+5% DMSO, 液氮储存 |
| 支原体检测 | 荧光法 |
| 发货方式 | 快递运输(特殊情况的另处理) |
| 供应范围 | 仅限于科研实验使用, 不得用于其他用途 |

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°C 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 |

细胞操作

| | |
|------|---|
| 复苏细胞 | <p>将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。</p> <p>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)。</p> <p>第二天换液并检查细胞密度。</p> |
| 细胞传代 | <p>如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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°C 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 |

| | |
|-------------|--|
| | <p>敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> |
| <p>细胞冻存</p> | <p>待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类：</p> <p>1. 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。</p> <p>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 1×10^6/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p>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。</p> |
| <p>注意事项</p> | <p>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。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> |

| | |
|--|---|
| | <p>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。</p> |
| | <p>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。</p> |

细胞备注

| |
|--|
| <p>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。</p> |
| <p>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。</p> |
| <p>3) 金少源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 4008-723-722, 我们随时给予实验中的解答。</p> |

细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题, 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。

细胞不予重发

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。

金少源(上海)生物科技有限公司提供的细胞仅供科研使用