

hCMEC/D3 永生化人脑微血管内皮细胞

产品信息

Catalogue No： C332

Product Format： a T25 flask

Culture Properties： 贴壁

Complete Growth Medium： 89%H-DMEM+10%FBS+1%双抗

Atmosphere： air, 95%; carbon dioxide (CO₂), 5%

Application： Cells and cancer research

NOTE： FOR RESEARCH USE ONLY

产品组成

Item	Specifications
a T25 flask	2X10 ⁶
Manual	1 copy

细胞培养操作步骤

1. 吸走用于培养基，加入 3-5mL PBS 后轻轻晃动培养瓶润洗细胞。
2. 吸干净 PBS 后加入 1mL 0.25%胰酶-0.53mM EDTA，轻轻摇晃培养皿使胰酶浸没细胞表面，培养瓶放 37 度培养箱消化；（细胞对于消化比较敏感，消化过度会严重影响细胞状态，导致细胞传代死亡漂浮或者传代后不长。细胞消化到细胞间隙变大但未脱落，可以轻轻

吹下时即可终止，禁止消化到细胞完全漂浮。混匀细胞时尽量轻柔，不要吹出大量气泡。)

3. 加入 6-8ml 完全培养基终止消化，轻轻吹下细胞混匀。
4. 将混匀的细胞 1000rpm (约 150g) 离心 3min，弃上清，再用新鲜培养基重悬 37 度培养箱继续培养。

传代比例：不同细胞生长速度不一，具体传代比例视细胞生长速度而定，大部分细胞适用 1:3-1:4 传代，生长较慢的细胞可以 1:2 传代。

细胞保存

1. 冻存液：92%完全培养基+8%DMSO (可以根据实验室条件自行选择)
2. 降温步骤：4 度 10min，-20 度 2h，-80 过夜后液氮保存。

小提示

1. 细胞经过运输后，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。贴壁细胞可以消化，悬浮细胞直接混匀收集细胞，900-1000rpm(约 150g)离心 3min，弃上清。加 5ml PBS 重悬细胞，再 900-1000rpm(约 150g)离心 3min，用新鲜的完全培养基重悬接种到新的培养瓶。第二次 PBS 重悬是为了去除碎片，如果平时碎片比较少，传代时可以省略 PBS 重悬的步骤；如果碎片很多，建议 PBS 多洗几次。
2. 细胞生长不均时，可以将细胞消化吹散后加入新的培养基重新接种或传代。
3. 细胞生长缓慢时，可以选择提高血清浓度培养 (最高不超过 20%)，也可以根据细胞生长状态，选择传代细胞到新的培养瓶中继续培养。
4. 不同细胞贴壁性差异比较大，所以消化时间差别较大，20s-10min 均有可能，具体以细

胞消化到相互分离但未脱落，并可以轻轻吹下为准，严禁消化到细胞完全漂浮。客户消化过度导致细胞死亡、漂浮、生长缓慢，不提供免费售后服务。

5. 干冰发货均为两支，客户先复苏一支，若复苏失败及时联系我方并在我方指导下复苏第二支。若客户同时复苏两支均状态不佳，我方不提供免费售后服务。

6. 细胞状态正常时，应尽快冻存细胞保种，冻存后应随机抽取一支检测冻存效果。我方不对客户冻存细胞导致死亡负责，客户冻存细胞死亡不提供免费售后服务。

注意事项

上海纪宁生物细胞仅供科研实验使用

客户收到细胞有任何疑问请及时致电我们，细胞收到后 1 周内没有任何电话，或其他形式回访，默认为细胞质量没问题，之后出了任何问题不给予免费售后。细胞免费售后只提供一次，若重发后再次培养死亡不再免费补发，细胞收货时已经死亡或密度不足的除外。