

hCMEC/D3 细胞说明书

一、产品信息

细胞名称	永生化人脑微血管内皮细胞；hCMEC/D3
细胞别称	HCMEC/D3; CMEC/D3; human Cortical Microvessels Endothelial Cells/D3
产品货号	ADS-C-1110
产品规格	1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶
生长特性	贴壁生长
细胞形态	上皮样
培养体系	内皮专用培养基
传代比例	1:2~1:3
消化时间	1-2min
冻存条件	无血清细胞冻存液（科研级）
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃。
注意事项	收集细胞瓶中完全培养基做过渡对比培养

二、常温细胞收货后处理方法

1. 收到细胞后，首先观察培养瓶是否完好，若发现培养瓶有破裂，培养基外溢、浑浊等现象，请及时拍照并与我们联系；
2. 用 75%酒精对培养瓶表面进行消毒处理，将培养瓶置于细胞培养箱中静置培养 2~4 h，以恢复细胞状态；

3. 静置完成后，取出培养瓶，显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照保存（40×,100×,200×各一张）前三天照片为重要售后依据。如发现细胞异常请及时与我们联系，如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好；
4. 若细胞密度超过 80%，则可以根据提供的细胞培养步骤进行传代或冻存；若细胞密度未达到 80%，收集瓶中完全培养基，留 6mL 培养基，放入细胞培养箱中继续培养。

三、冻存细胞收货后处理方法

1. 收到细胞后，首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余，冻存管是否完好，是否有解冻情况，若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象，请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好；
2. 复苏第一管如有活性、状态问题及时与我们联系，会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。

特别说明：未与我方联系，擅自复苏第二管出现问题不予售后。

四、细胞培养步骤

1. **复苏细胞：**从液氮罐中或-80℃冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃。
 - 1) 将查找到的冻存细胞在 37℃水浴中迅速摇晃解冻；
 - 2) 将冻存管中的细胞移至含 5ml 完全培养基的离心管中，1000rpm 离心 5min；
 - 3) 弃去上清液，补加 4-6mL 完全培养基后吹匀，接种于 T25 培养瓶中（或

6cm 皿中)，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。
 - 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 1-2mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2min，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 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；
 - 3) 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm 离心 5-8min，弃去上清液，补加 1-2mL 完全培养基后吹匀；
 - 4) 按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。
(即 1 个 T25 传代接种至 2~3 个 T25 或者 2~3 个直径为 6cm 的培养皿)
3. **细胞冻存**：细胞收集参照传代步骤 1~2，按冻存数量加入无血清冻存液后直接放 -80℃ 冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

关于细胞株售后服务

一、细胞出现问题，可重发的情况有哪些？判定标准是什么？

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. 细胞污染问题，请在收到产品 48 小时内，给我们提出真实的实验结果，核实后重发；
3. 常温发货的细胞静置 24 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后 24 小时后，绝大

多数细胞未存活，（需提供真实清晰的细胞状态照片），重发；

4. 干冰冻存发货的细胞复苏后 24 小时后或常温发货的细胞静置 4 小时并且未开封，出现污染，重发；
5. 细胞活性问题，请在收到产品 7 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，核实后予重发；
6. 细胞收到当天以及第 2、3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题有提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。技术人员判定为双方承担责任的由双方进行协商处理或者按合同价的 50% 收费重发。

二、细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

1. 客户造成细胞污染，不重发；
2. 客户不正确操作致细胞状态不好，不重发；
3. 非本库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，未提供细胞培养前 3 天照片的，不重发；
5. 细胞培养时经其它处理的，不重发；
6. 细胞收到 2 天内，未告知，不重发；
7. 视具体情况而定。