



## HMEC-1 人微血管内皮细胞使用说明书

货号	PE101023
细胞名称	HMEC-1 人微血管内皮细胞
描述	***
种属	人
组织来源	***
形态	内皮细胞样
培养特性	贴壁
安全性	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
培养基	<p><b>配套完全培养基: MCDB 131 基础培养基+10%胎牛血清 +10 ng/mL 表皮生长因子 +1 μg/mL 氢化可的松+2 mM mM L-丙酰胺-谷氨酰胺溶液+1%P/S</b></p> <p><b>温度: 37℃</b></p> <p><b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b></p>
细胞复苏	<p><b>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基;</li> <li>2.将冻存管放入 37℃水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区;</li> <li>3.小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, <b>1000rpm 离心 5min;</b></li> <li>4.弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量: 5~7ml);</li> <li>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要 (如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。</li> <li>6. 将培养瓶放入 CO2培养箱中培养。</li> </ol>
传代	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, <b>若培养瓶上无特殊标注</b>, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p>

1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；
2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 5min，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入终止液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液；
3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；
5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。注：1. 观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；
2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液；
3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；
4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。

保存 仅供研究之用

供应限制 冻存条件：无血清细胞冻存液  
保存条件：液氮存储

常见问题及解决方案

1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。
2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）
3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm，5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）
4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm，5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）

如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。