

hCMEC/D3-RFP

永生化人脑微血管内皮细胞-红色荧光蛋白标记

名称:	永生化人脑微血管内皮细胞-红色荧光蛋白标记
货号:	RZQ0020
描述:	<p>hCMEC/D3 细胞系来源于从癫痫手术切除的组织中分离出的人颞叶微血管。原代分离物富含脑内皮细胞 (CECs)。在第一代中, 通过慢病毒载体转导人端粒酶催化亚单位 (hTERT) 和 SV40 大 T 抗原, 将细胞顺序永生化, 然后通过有限稀释克隆选择性分离 CEC, 并广泛鉴定克隆的脑内皮表型。这种脑微血管内皮细胞系代表了一种人类血脑屏障的模型, 这种模型可以很容易地生长, 并且易于进行与中枢神经系统 (CNS) 相关的病理和药物转运机制的细胞和分子研究。</p> <p>该细胞通过慢病毒转染的方式携带 mcherry 基因。</p>
形态:	纺锤形, 细长型
培养特性:	贴壁
培养条件:	95%空气, 5%二氧化碳; 37°C

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: www.zqxzbio.com
电话: 400-038-9959
邮箱: sales@zqxzbio.com

【公司官网】



【公众号】

产品说明书

【培养须知&重点】

该细胞为稳定转染 RFP 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 RFP 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代，冻存留种后再进行筛选。

初次进行细胞筛选时，建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选，可在显微镜下观察 RFP 荧光亮度，若细胞表达 RFP 高，使用 2ug/ml 维持培养即可，若亮度还不足，可以梯度递增添加嘌呤霉素进行筛选。若筛选过程中，漂浮细胞大于 40%，则停止筛选，换成正常培养基培养，至细胞密度约 80%，可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。直到细胞正常增殖，RFP 表达高，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。

【培养试剂&培养条件】

推荐自配试剂配方：	基础培养基；添加物等。
推荐专用培养基货号：	ZM0961
推荐胰酶货号：	CSP045
推荐冻存液货号：	CSP042
推荐嘌呤霉素货号：	CSP079
传代比例	1: 2~3
换液频率	2-3 次/周

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: www.zqxzbio.com
电话: 400-038-9959
邮箱: sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

产品说明书

【细胞培养操作方法】

一、运输方式：

1. 干冰运输：1mL 冻存管干冰运输，及时拍照记录有无管壁破损现象，完好立即转入-80 度冰箱保存过夜，再转入液氮保存或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损，请立即与我们联系。
2. T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象，用 70%酒精消毒细胞培养瓶各个表面后，**满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作**；悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置，贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置，**在此期间，请查看说明书以确定细胞属性**。请拍 4X、100X、200X 各 2-3 张照片作为售后时收到时细胞状态的依据。
 - 2.1. 细胞密度为 80%左右时需传代。
 - 2.2. 细胞密度小于 70%且无细胞脱落情况下，吸除部分培养基，瓶内保留 5 毫升培养液，继续培养。（**灌装培养基需要是完全培养基**）。

二、传代培养：

1. 细胞有脱落情况时，将培养液转移到无菌离心管中，离心（125g，3~5 分钟）1000-1200rpm 收集悬浮细胞（漂浮细胞少，可能无沉淀，大部分在管壁上）；轻柔去除培养基，等贴壁细胞消化收集在一起混匀接种。
2. 贴壁细胞用 PBS 洗 1~2 次，每次 3-5ml，添加 1ml 胰酶（0.25% 含 EDTA）到细胞瓶中，轻轻摇匀，使胰酶溶液铺满细胞表面，放入培养箱中。1-3min 后取出到显微镜下观察，（若细胞无变化继续放入培养箱消化）一旦细胞变圆、轻拍瓶尾部大部分细胞开始脱落，当达到 70-80%细胞漂浮脱落，立即加入 5ml 完全培养基（**含 10%FBS**）中和。用移液管轻轻吹打 6-8 次，使细胞充分分离。
3. 将细胞悬液转移到无菌离心管中，计数，离心收集细胞。用适量完全培养基重悬细胞沉淀，使细胞密度为每毫升 $0.6-2 \times 10^5$ 。将细胞悬液转至培养瓶中，静置于培养箱中。**建议 T25 培养瓶添加 5-7ml 完全培养基**，以后 2-3 天进行换液。

三、细胞冻存步骤：

1. 细胞密度 80%以上，活细胞百分率达 95%以上时，将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存。
2. 细胞沉淀用适量 4° C 冻存液（**货号：CSP042**）重悬，**建议一瓶 T25 细胞冻存一管（1ml/管）**，直接将分装好的细胞冻存管置于-80°C 超低温冰箱中过夜，若需液氮长期保存，需先置于-80°C 至少一天后方可转至液氮罐

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

产品说明书

中。

NOTE:若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作,若是自配冻存液需梯度降温冻存(2-8℃,放置 40min:-20℃,放置 30min-60min, -80℃放置一天后转移至液氮保存)或使用程序降温盒降温后,再转移至液氮中保存。

四、冻管细胞复苏:

1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移到细胞房,提前准备好完全培养基,离心管。
2. 冻管细胞在 37° C 水浴中迅速解冻(大约 1-2 分钟)。为了减少污染的可能性,保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻,立即将冻管移出水浴,70%的乙醇消毒冻管外壁。
3. 将内容物转移到含 3-6mL 完全培养基的离心管中,轻轻混匀,离心(125 g, 3~5 分钟)1000-1200rpm 去除培养基,细胞沉淀用手指弹松,添加 3ml 完全培养基混匀细胞并进行计数,用适量完全培养基将细胞密度调整至 $0.6-2.0 \times 10^5$,转移至培养瓶中,于培养箱中静置培养。**建议 T25 培养瓶添加 5-7ml 完全培养基。**当密度达到 80%以上时传代。

中乔新舟

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: www.zqxzbio.com
电话: **400-038-9959**
邮箱: sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在 SCI 期刊发表文献，且在文献中标注产品来源于“Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”，且标注相应产品名称及货号，均可参与活动。自 2024 年 1 月 1 日起，中乔新舟文献奖励按照如下规则进行：

文献引用奖励

	影响因子	奖励
SCI 期刊杂志	$1 \leq IF < 5$ 分	1000 积分
	$5 \leq IF < 10$ 分	2000 积分
	$10 \leq IF < 15$ 分	3000 积分
	$15 \leq IF < 25$ 分	6000 积分
	$IF \geq 25$ 分	8000 积分

备注：积分可用于积分商城礼品兑换，1000 积分等同于 100 元实物礼品。

活动说明：

1. 申请人文献已发表，且为第一作者或第一通讯作者；
2. 文献发表于 2022 年 7 月 1 日后
3. 提供文献全文（PDF 格式）提供的实验数据、图片、文献等相关信息可在我司官网、微信公众号等推广渠道发布做展示使用；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子（IF）以申请奖励时为准；
6. 本活动最终解释权归上海中乔新舟生物科技有限公司所有。

奖励申请流程：

1. 关注中乔新舟公众号，发送“文献奖励申请表”即可。
2. 完整填写申请表，审核无误后，经公司审核通过后，我们将在 10 个工作日内与申请人联系并发放积分；
3. 如有疑问，发送邮箱即可联系我们 jw@zqxzbio.com。
4. 关注中乔新舟公众号---点击关于我们---点击文献奖励即可了解信息。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】