人小胶质细胞（HMC3）

一、细胞基本属性

细胞名称	人小胶质细胞（HMC3）
细胞别称	HMC3
商品货号	HC076
种属来源	人
组织来源	脑
细胞介绍	HMC3细胞系通过人类胎儿脑源性初级小胶质细胞培养物的SV40依赖性永生建立
生长特性	贴壁生长
细胞形态	巨噬细胞样
生物安全等级	1
细胞规格	1 × 10^6cells/T25培养瓶或者1mL冻存管包装
支原体检测	无
培养基	MEM（NEAA）+10%FBS
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
定存条件	无血清冻存液，液氮储存
细胞接收后的处理	1）收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于室温放置约1h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。 2）请在4或5X显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。 3）贴壁细胞：**细胞在室温中放置1h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。**若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。 细胞运输途中脱落操作方法：把脱落的细胞收集离心后弃上清，用PBS清洗一遍，离心弃上清，在离心管中加入1ml胰酶吹散消化20秒左右，加完全培养基终止消化后离心重新铺平，剩下的贴壁细胞就按照正常贴壁细胞传代方法操作。 4）**备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。 收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代 。**

二、细细胞处处理

1）复苏细胞：将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含8mL完全培养基的离心管中混合均匀。在1000RPM条件下离心5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基的培养瓶（或皿）中37℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2）细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS 5 mL润洗细胞1-2次。
2. 加入0.25%（w / v）胰蛋白酶-0.53 mM EDTA于培养瓶中（T25瓶1mL，T75瓶2mL），置于37℃培养箱中消化2分钟左右（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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入5-6ml含10%FBS的培养基来终止消化。
3. 轻轻打匀后吸出，在1000RPM条件下离心5min，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml 照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按1:2 1:5的比例进行。

贴壁细胞传代注意点：

1、 一定要PBS洗一遍。
2、 细胞多观察几次掌握时间，不要在细胞没有基本脱落就终止消化然后吹打下来，这样细胞更容易分化和死亡。
3、 不要一直对细胞吹打。

3）细胞冻存：收到细胞后建议在培养前3代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面**T25瓶**为例；

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1×10^{6}~1×10^{7}个活细胞/ml。
2. 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用无血清细胞冻存液重悬细胞 ，按每1ml冻存液含1×10^{6}~1×10^{7}个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，**-80度**冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

三、培养注意事项：

①细胞出现问题，予以重发情况：

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3天内，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2小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后2天后，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2天后或常温发货的细胞静置2小时候并且未开封，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，和每天的细胞照片，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天内出现问题需提供收到细胞前3天照片和细胞出现问题的照片以及细胞相关操作的详细步骤，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。

②细胞出现问题，不予以重发的情况：

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. 收到细胞并发现问题与客服人员沟通的时间证明大于7 天的，不重发；
7. 视具体情况而定。

注意事项：

1. 所有动物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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。