



细胞基本信息

细胞中文名称:	人子宫内膜基质细胞
细胞英文名称:	THESCs
细胞生长特性:	贴壁细胞
细胞培养条件:	DMEM/F12+10%FBS+1% P/S+1% L-Glutamine 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度, 37℃
细胞冻存条件:	30% 基础培养基+60%FBS+10%DMSO 液氮保存
推荐传代比例:	1:2~1:3
推荐换液比例:	2~3 次/周

(细胞具有密度依赖, 传代比例不易过高, 接种密度过低会导致细胞状态变差甚至死亡。)

我司建议培养操作步骤 (仅供参考)

1. 细胞复苏:

- (1) 将冻存管从液氮中取出, 快速放入37℃ 水浴锅中, 轻摇冻存管使之溶解;
- (2) 溶解后把细胞悬液转移到含有 5ml 培养基的离心管中, 离心收集细胞, 室温1000rpm 离心 3 min, 弃上清;
- (3) 加入新鲜的完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液接种到含6-8ml 完全培养基的培养瓶中轻轻吹打混匀, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养过夜。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 (以 T25 瓶为例):

贴壁细胞

细胞汇合度达 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) 吸出原培养液;
- (2) 加入3ml 左右不含钙、镁离子的PBS, 轻轻晃动培养瓶润洗细胞, 吸出PBS 丢弃;
- (3) 加入 1ml 左右0.25%胰蛋白酶溶液 (含 EDTA), 轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞;



- (4) 置于37°C 培养箱消化 1-2 分钟(难消化的细胞可以适当延长消化时间)，显微镜下看到细胞明显变圆，有间隙时可终止，全程不要拍打培养瓶；
- (5) 加入 3ml 含 10%胎牛血清的培养基终止消化，轻轻吹打混匀后吸出，细胞尽量呈单细胞悬液；
- (6) 将细胞悬液转移至离心管中，室温 1000rpm 离心3 分钟，弃去上清液；
- (7) 加入2ml 新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可。首次传代将细胞悬液按 1 : 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加6-8ml 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 1:2~1:3 的比例进行。

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 1000rpm 离心 3-5min，弃去上清；
- (2) 加入细胞冻存液（30% 基础培养基+60%FBS+10%DMSO）重悬细胞，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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml，将悬液加入到冻存管中；
- (3) 将冻存管放入梯度冻存盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中长期保存。

常温细胞收货后处理方法

1. 收到常温细胞后，及时**拍照整体外观**记录T25 瓶有无**漏液/瓶身破损**现象；
2. 显微镜下观察，**拍照/录像**记录有无**染菌**现象；
3. 用75%酒精擦拭瓶身，先不开盖，直接放入培养箱中**静置2-4 小时**，稳定细胞状态；
4. 静置完成后，**拍照记录不同倍数镜下细胞状态**，100X, 200X 各3 张（尽量当天拍照反馈，以便实验室及时售后跟踪处理）；
5. 若细胞密度超过 80%，则可正常传代处理，第1 次传代比例推荐 1:2（6cm 皿或T25 瓶）。若细胞密度未到 80%，由于细胞具有密度依赖性，请将细胞更换新鲜培养基后，放置培养箱中继续培养过夜；（注意拧松瓶盖。悬浮细胞注意收集所有培养基进行离心收集细胞。不建议客户继续使用原培养基培养细胞。）
6. 传代培养以后，1-3 天每天拍照记录细胞生长状态；
7. 由于气温运输等原因造成细胞漂浮等异常现象，请及时联系实验室技术支持进行指导。



冻存细胞收货后处理方法

1. 干冰运输，收到细胞后，请第一时间检查干冰是否已经完全挥发、冻存管瓶盖是否脱落破裂，请立即拍照后与我们联系；
2. 收到细胞后推荐直接复苏，如果不能直接复苏请放入-80℃冰箱保存过夜后转入液氮长期保存。（细胞直接转入液氮暂存可能导致细胞复苏率较低）
3. 细胞复苏步骤请参考上文推荐操作方法。

附1：售后服务告知书

温馨提示：收到细胞后，请务必仔细阅读《细胞说明书》和《售后服务告知书》。由于各种因素的影响，请客户收到细胞后7天内反馈细胞状态，若不能及时反馈并提供相关照片，本公司默认货物为合格品，超出服务时间，不免费重发。

一、细胞出现问题，可免费重发的情况有哪些？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、收到细胞未开封出现污染状况，免费重发一次细胞（**收货当天提供原培养瓶未拆封外观照片和镜下微生物污染的照片**）；
2. 收到细胞有漏液现象，请于收货当天及时拍照记录，培养3天内出现细胞污染现象，及时反馈真实结果照片（提供1-3天100X,200X各3张），免费重发一次细胞；
3. 干冰发货的冻存细胞复苏后2天，绝大多数细胞未存活，台盼蓝染色法鉴定细胞活力，核实后免费重发一次细胞（需提供真实清晰的细胞状态照片100X,200X各3张）；

二、细胞出现问题，不予免费重发的情况有哪些？

1. 由于客户操作严重失误，造成细胞污染，导致细胞状态不好，不予重发；
2. 客户细胞培养体系或培养条件与说明书推荐不符的，造成细胞状态不好，不予重发；
3. 收到细胞发现问题与我司技术人员沟通的时间证明超过收货7天的，不予重发；



河南鲲生生物科技有限公司
Henan Kunsheng Biotechnology Co., LTD

三、其它服务政策

1. 客户在细胞培养过程中,有任何技术问题可以拨打技术售后服务电话: 15271890502(微信同号),我们随时给予解答。
2. 售后服务期延长至 1 个月,1 个月内出现问题与技术人员沟通时,需提供前3 天细胞照片和出现问题时的照片以及细胞培养的详细操作步骤,由技术人员判定为我方责任的,可免费重发;技术人员判定为双方承担责任的则由双方进行协商处理重新定价后可低价重发。
3. 如客户对细胞的种类、纯度、活性等特性有疑问, 需在收到细胞 1 个月之内提供相应的生物学实验检测结果作为依据。经我们技术确定细胞确实有问题的,我们只对细胞本身负责,不对客户进行其他任何补偿。经检测有部分细胞有个别多等位点突出的不在售后范围之内。