



# 细胞培养说明书

## 一、细胞培养条件

细胞英文名称	HEK-293	细胞中文名称	人胚肾细胞
形态特性	上皮样	生长特性	疏松贴壁
培养条件	DMEM+10%FBS+1%双抗		
传代方法	建议第一次 1:2 传代	消化时间	30s 左右
冻存条件	细胞库无血清冻存液	培养环境	37℃, 5%CO <sub>2</sub> , 95%AIR
备注			

## 二、细胞收到后处理

细胞在培养瓶中培养至良好状态后灌满完全培养液并封好瓶口是细胞运输的最好办法。收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作，培养箱静置 2-4 小时。镜下观察：未超过 80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，加入 6ml 完全培养基，放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱培养；超过 80%汇合度时，根据情况传代或者冻存，具体操作见细胞培养步骤。（注意发货的是密封培养瓶的话，处理完后放入培养箱培养记得培养瓶盖拧松，传代后建议一瓶用原瓶里面的完全培养基，另外一瓶用自己配的完全培养基）

## 三、细胞培养步骤

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 5mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 5 分钟，弃去上清液，补加 4-6mL 完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 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、对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

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，在 1000RPM 条件下离心 8-10 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 按 5-6ml/瓶补加培养液，将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 5-6 ml 培养液的新皿中或者瓶中。

PS: 若客户收到 2ml 小管细胞，收到细胞后，用 75%酒精喷洒整个管子消毒后放到超净台或



安全柜内，严格无菌操作；将小管细胞转移至 T25 培养瓶或 6cm 培养皿，加入 5ml 左右完全培养基混匀，放入培养箱过夜培养后查看细胞密度：若密度未超过 80%，换液继续培养，视情况传代或者冻存。若密度超过 80%，可直接进行传代（方法同上）。

## 售后服务告知书

### 一、收到细胞处理方法

1. 收到细胞先不开瓶盖，瓶身擦拭酒精后放在培养箱静置若干小时（视细胞密度而定）稳定细胞状态。接着在倒置显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照（建议收细胞时就整体外观拍一张照片，观察培养基的颜色和是否有漏液情况，随后在显微镜下拍下细胞状态，100×，200×各一张），观察记录细胞在运输过程中是否有污染情况。作为我方进行售后的依据。
2. 收到细胞未开封，出现污染状况我们负责免费重发一次细胞。
3. 由于细胞状态受环境、操作和运输等多方面因素的影响，故本公司只保证客户收到细胞后一周内的细胞状态，故客户需要售后是需出示收到细胞的时间证明及客户提供收货时间和发现问题后与客服人员沟通的时间证明，期间间隔时间不能大于 7 天。
4. 如客户对细胞的种类、纯度、活性等特性有疑问，需提供相应的生物学实验检测结果作为依据。

### 二、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。

### 三、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。

**注意：**若对细胞鉴定存在争议，可以在收到细胞 3 个月内提供真实有效的 STR 检测证明，本公司承诺无条件退还细胞款项，其他情况本公司将不予受理。