



## T HESCs 人正常子宫内膜间质细胞 说明书

|                       |  |
|-----------------------|--|
| 编号 NO.                | PE101009   |
| 名称 Cell name          | T HESCs  |
| 描述<br>Description     | T HESCs are hTERT-immortalized cells exhibiting fibroblast morphology that were isolated from the uterus of a female patient with non-malignant myomas. This cell line has applications in drug development, high-throughput screening, and quality control.   |
| 种属<br>Species         | Homo sapiens, human  |
| 组织<br>Tissue          | Uterus; Endometrium  |
| 形态<br>Morphology      | Fibroblast   |
| 安全性<br>Safety         | 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<br>Culture Medium | A 1:1 mixture of Dulbecco's modified Eagle's medium and Ham's F-12 medium with 3.1 g/L glucose and 1mM sodium pyruvate and without phenol red supplemented with 1.5 g/L sodium bicarbonate, 1% ITS+ Premix (Report RE1211), 500ng/mL puromycin, 90%; charcoal/dextran treated fetal bovine serum, 10%<br>Temperature 37° C<br>Atmosphere 95% Air, 5% CO2   |
| 细胞复苏<br>Cell Thawing  | <p><b>注意: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> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.在无菌区准备好15ml离心管和T-25培养瓶分别加入约2ml和7ml培养基。</li> <li>2.将冻存管放入37℃水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。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，加入到准备好的15ml离心管中1000rpm, 5min离心。</li> <li>4.弃上清，轻弹管底将细胞弹散，加入约1ml培养基重悬细胞并转入T-25培养瓶中，轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。</li> <li>5.将培养瓶放入CO2培养箱中培养。</li> <li>6.过夜后，观察细胞形态和数量，及时补充培养基(补液量不要超过原体积)。</li> </ol> |

---

**传代  
Subculturing**

- 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，待其恢复细胞基本生长状态后，将整瓶细胞及培养液分批离心，详细操作参考下面步骤。
- 1.缓冲后，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，若培养瓶上无特殊标注，以1000rpm, 5min 将所有细胞悬液分别离心后收集于离心管中，半悬浮细胞，悬浮细胞操作同上。
  - 2.根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养（建议第一次处理时分2个T-25 培养瓶培养每瓶加培养基约7ml），第二天根据培养基颜色和细胞密度判断后补液；
  - 3.对于悬浮细胞和半悬浮细胞，请根据细胞数量、培养基体积和培养基颜色判断后及时补液(补液量不要超过原体积)。
  - 4.待细胞密度达到80%以上，可进行分瓶或换液，换液时将所有细胞培养液1000rpm,5min 离心，不建议频繁进行离心。
  - 5.离心后弃上清，加入新鲜培养基重悬细胞，根据细胞数量分瓶培养。
  - 6.如果没有特别说明，收到细胞后的第一次传代比例为1:2，培养液必须常温。

- 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.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；
  - 3.悬浮细胞聚团生长这个现象，如果在培养期间出现较大团块时可在补液时轻轻吹匀细胞，有部分小团块属于正常现象；细胞达到传代密度时出现较大团块，将细胞离心后去除上清轻弹管底沉淀再重悬进行接种；
  - 4.细胞对血清质量较为敏感，建议使用进口大品牌优质血清进行培养；
  - 5.瓶中运输的培养液不能重复使用，请及时更换新鲜培养液；
  - 6.请保持无菌操作，瓶盖开启前请将培养瓶瓶口再次消毒、过火；
  - 7.对于半悬浮细胞，如有必要可用低浓度消化液消化贴壁细胞。

---

**保存  
Storage**

冻存条件：无血清细胞冻存液）  
保存条件：液氮存储

---

**供应限制  
Product Use**

仅供研究之用

---

**常见问题及解  
决方案  
Questions and  
solutions**

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。