

产品名称：人正常表皮角质形成细胞 NHEK
产品货号：CXH00171



基本信息

细胞中文名称	正常人表皮角质形成 细胞
细胞英文名称	NHEK
细胞生长特性	贴壁细胞
细胞培养条件 (推荐)	生长培养基：MEM (含 NEAA) + 10% FBS + 1% P/S 培养条件：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37°C，饱和湿度。
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	1:2~1:4
推荐换液比例	2-3 次/周

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。如有上述情况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°C 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下文推荐操作方法：

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°C 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°C、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

（一）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：

产品名称：人正常表皮角质形成细胞 NHEK
产品货号：CXH00171

- 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 1:3~1:4 的比例进行。

悬浮细胞

（二）悬浮细胞直接离心收集，细胞沉淀重悬后分到新培养瓶中。一般情况下细胞密度维持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL（不同细胞对密度要求不同），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 新鲜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 1:2~1:4 的比例进行。

3. 细胞冻存：

- 1) 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；
- 2) 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；
- 3) 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；
- 4) 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。

备注：该细胞仅供科研使用！

细胞售后条例

一、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 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 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；（冻存细胞发货 2 支，两支细胞都存在污染，经核实后重发。）
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。

二、细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

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。

三、细胞准确性

细胞出货时附带鉴定报告（细胞系随货提供纸质报告，原代细胞发货后 10 天内提供），如果客户对细胞的种类、纯度等特性有疑问，需在收到细胞后 2 个月之内提供相应的生物学实验检测结果作为依据，经供应商技术确定细胞确实有问题的，可进行相应处理，但只对细胞本身负责，不对客户进行其他补偿。

备注：

1. 细胞售后需与技术支持确认，特殊情况需与上级申请。
2. 前期推广细胞时，在细胞自到货日起的 30 天内，可享受无条件售后。但需联系技术支持，并提供细胞图片。
3. 原代细胞售后视情况而定，且无一个月无条件售后。