



## NCI-H716 细胞使用说明书

### ▶ 产品基本信息

产品编号	EDC2024072-W072		
细胞名称	NCI-H716	中文名称	人结直肠腺癌细胞
细胞形态	悬浮		
消化时间	30 s-1 min	传代比例	1/3, 2-3 days
完全培养基	1640+10%FBS		
冻存培养基	95%完全培养基+ 5% DMSO		
备注			

### ▶ 细胞接收

#### 1. 冻存细胞

如果是干冰运输的冻存细胞,收到后请立即转入液氮储存保存,或直接进行细胞复苏。

#### 2. 活细胞

收到后用 75%的酒精对 T25 瓶外表面进行消毒,之后放在 5%CO<sub>2</sub>、37°C的细胞培养箱静置 2 h,静置后取出细胞瓶在显微镜下观察细胞贴壁情况和细胞汇合度,分别在 100 X 和 40 X 下各拍 2 个不同视野的细胞拍照记录。如果汇合度达到 80%以上的传代密度,可以进行传代操作,如果细胞汇合度没有达 80%以上不够传代,弃掉瓶内培养基,更换新鲜完全培养基。(灌满细胞培养基不能正常用来培养细胞)

### ▶ 细胞复苏

1. 水浴锅 37°C预热;
2. 适合该细胞系的完全培养基预热到 37°C;
3. 在 15 mL 离心管中加入 6 mL 完全培养基备用;
4. 从液氮中取出细胞,在 37°C水浴中轻轻转动冻存管,直到冻存管内仅剩余一小块冰芯,使细胞在 2 min 内迅速解冻(水不能没过盖子或用封口膜把冻存管口封上);
5. 将冻存管转移到超净工作台内;打开盖子前,用 75%酒精擦拭冻存管外部;
6. 用移液枪吸取细胞冻存悬液,转移至已预热的完全培养基的离心管内;
7. 细胞悬液以 500 g 离心 5 min;





8. 离心后, 检查上清液是否清澈, 有无完整的细胞沉淀; 在无菌条件下, 小心吸掉上清液, 加入 1 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀;

9. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或同等底面积的培养容器, 每瓶加入 4 mL 完全培养基;

10. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中 (培养环境取决于细胞和培养基类型);

11. 复苏次日, 观察细胞状态。

(1) 贴壁细胞若细胞贴壁情况良好, 可以更换新鲜的完全培养基; 若观察到细胞呈圆亮形态但不贴壁, 可以让细胞继续培养 24 h 后再进行换液操作。之后, 根据细胞的生长状况, 每 2-3 天更换一次完全培养基, 观察细胞, 生长至 80% 以上的汇合度, 即需传代。若细胞生长较慢或汇合度较低时, 可以减少换液次数。

(2) 悬浮细胞复苏后尽量放在相对小一些的容器中, 使用含 20% 血清的培养基复苏。悬浮细胞若细胞状态良好, 可以更换新鲜的完全培养基; 若细胞状态差且呈现灰度, 可以继续培养 24 h 后再观察细胞。观察发现有活细胞, 可进行换液操作, 观察细胞无明显变化, 及时反馈本公司售后。

## ► 细胞传代

### 1. 贴壁细胞

(1) 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C;

(2) 从培养容器中吸弃上清;

(3) 从容器一侧轻轻加入 PBS (T25 培养瓶加入约 2 mL) 洗涤细胞 1 次。注意动作轻柔, 清洗全面, 避免搅动细胞层, 前后摇晃容器数次吸去 PBS (注: 冲洗步骤可去除可能抑制解离剂作用的少量血清、钙和镁);

(4) 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1 mL), 摇晃均匀, 保证充分接触细胞表面。放入培养箱消化;

(5) 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80% 细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面;

(6) 立即加入 2-3 倍胰酶体积的完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化;

(7) 使用移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来; 注意: 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 损伤和损失细胞。

(8) 收集的所有细胞悬液以 500 g 离心 5 min;

(9) 离心后去除上清。加入 1 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀;

(10) 将细胞按一定的比例传代接种, 建议首次按照 1: 2 进行传代, 若细胞在两天内长满可





增加传代比例,若细胞生长三四天还未长满,可适当缩小传代比例;

注意:请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

- (11) 摇匀细胞,放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中(如果使用培养瓶,将其放入培养箱前应将瓶盖旋松,以便进行充分的气体交换,除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖);
- (12) 传代次日,观察细胞状态。若发现较多死细胞,进行换液操作。之后,每天根据细胞的生长情况更换完全培养基,观察细胞,生长至 80% 以上的汇合度,即需传代或冻存。

## 2. 悬浮细胞

- (1) 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C;
- (2) 使用移液管吸取细胞悬液,吹打培养容器底面数次,尽可能将细胞都吹打下来;注意:吹打动作不可剧烈,避免产生大量气泡,损伤和损失细胞。
- (3) 收集的所有细胞悬液以 500 g 离心 4 min;
- (4) 离心后去除上清。加入 1 mL 完全培养基,轻柔吹打细胞沉淀,充分吹散、混匀;
- (5) 将细胞按一定的比例传代接种,建议首次按照 1:2 进行传代,若细胞在两天内长满可增加传代比例,若细胞生长三四天还未长满,可适当缩小传代比例;  
**注意:请根据细胞实际生长情况调整传代比例。**
- (6) 摇匀细胞,放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中(如果使用培养瓶,将其放入培养箱前应将瓶盖旋松,以便进行充分的气体交换,除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖);
- (7) 传代次日,观察细胞状态。若发现较多死细胞,进行换液操作。之后,每天根据细胞的生长情况更换完全培养基,观察细胞,生长至 80% 以上的汇合度,即需传代或冻存。

## ▶ 细胞冻存

1. 按细胞传代的方法,收集细胞沉淀,根据沉淀大小加入适量培养基重悬细胞。
2. 用移液管吹打混合均匀,取 20  $\mu$ L 进行细胞计数;
3. 500 g 室温离心 5 min,离心后,打开盖子吸去上清,用 1~2 mL 4°C 预冷的冻存液重悬细胞,随后
4. 加入冻存液调整至密度为  $1 \times 10^6$  -  $1 \times 10^7$  个细胞/mL;
5. 将细胞悬液按 1 mL/管平均分装至冻存管中,旋紧盖子,冻存管应提前贴好细胞名称、细胞代次、数量、冻存日期;
6. 将冻存管放置于 4°C 预冷的程序降温盒中,并在冻存结束的 15 分钟之内将程序降温盒放置超低温冰箱内;
7. 过夜后,将冻存细胞转移至液氮罐内保存。

## ! 注意事项





1. 收到常温细胞后, 及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面, 显微镜下观察细胞状态。先不要打开培养瓶盖, 将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2~4 小时, 以便稳定细胞状态。
3. 仔细阅读细胞说明书, 了解细胞相关信息, 如贴壁特性、细胞形态、所用基础培养基、传代比例、换液频率等。
4. 静置完成后, 取出细胞培养瓶, 镜检、拍照, 记录细胞状态 (所拍照片将作为后续服务依据); 建议细胞传代培养后, 定期拍照, 记录细胞生长状态。
5. 若观察到异常或对细胞有疑问, 请及时跟我们联系; 对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的, 可跟我们的技术支持交流。

## ▶ 产品优势



### 物种丰富

超 100 种野生型细胞, 涵盖人/鼠/鸡/猪/牛等物种, 全研究领域覆盖。



### STR 鉴定

每种细胞系都经过 STR/种属鉴定, 严格质检, 确保细胞身份正确。



### 实验验证

本库细胞均经过基因编辑实验验证, 适用于大多数基因编辑实验。



### 权威来源

本库细胞均从 ATCC、中科院等各大权威细胞库引进, 细胞代次低、活性高、状态好。

