

DiFi 人结直肠癌细胞  
Human Colorectal Cancer Cells ,DiFi

## 细胞特性

- 1) 来源：结直肠癌。
- 2) 形态：上皮细胞样。
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$  个/T25 瓶。
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性。
- 5) 规格：T75 瓶或者 1mL 冻存管包装。

## 运输和保存

- (1) 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。
- (2) 收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 250px 培养皿或者 T75 培养瓶中培养，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

## 细胞培养步骤

## 一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 DMEM-H 培养基，90%；胎牛血清，10%。DMEM 液体培养基。
- 2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液：90%完全培养基，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

## 二. 细胞处理：

- 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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 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 250px 皿中，加入约 8mL 培养基，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。**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 2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟，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少量培养基终止消化。
  3. 按 6-8mL/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。
  4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8mL 培养基的新皿中或者瓶中。
- 3) **细胞冻存**：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1mL 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

## 使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

