



## hacat 细胞使用说明书

### ► 产品基本信息

|       |                            |      |               |
|-------|----------------------------|------|---------------|
| 产品编号  | EDC2024075-W075            |      |               |
| 细胞名称  | hacat                      | 中文名称 | 人永生化角质细胞      |
| 细胞形态  | 上皮样细胞, 贴壁生长                |      |               |
| 消化时间  | 8-10 min                   | 传代比例 | 1/3, 2~3 days |
| 完全培养基 | DMEM+10% FBS               |      |               |
| 冻存培养基 | 完全培养液 75%+ FBS 20%+DMSO 5% |      |               |
| 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。

