

赛业 OriCell®

细胞产品手册

OriCell® B16BL6 细胞系完全培养基

产品货号：CMM5-1801



We help you discover life

产品介绍

小鼠黑色素瘤细胞系（B16BL6）是 B16 黑色素瘤细胞系的一个高转移性亚系，来源于 C57BL/6 小鼠的黑色素瘤。该细胞是通过体外筛选或体内传代获得，相比普通 B16 细胞，具有高致瘤性，可皮下接种至同系小鼠形成实体瘤，并具备天然肺转移倾向。

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®B16BL6 细胞系完全培养基，包含适合 B16BL6 细胞系生长的基础培养基、OriCell®标准级胎牛血清。

大量细胞培养数据验证，本产品可长期维持 B16BL6 细胞系在体外良好的生长状态。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

套装成分

套装成分	货号	体积
OriCell®Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BRPI-03011	450 mL
OriCell®Fetal Bovine Serum OriCell®标准级胎牛血清	FBSST-01033	50 mL

适用细胞信息

细胞名称	小鼠黑色素瘤细胞系
简称	B16BL6
组织来源	小鼠黑色素瘤
细胞特性	贴壁生长；成纤维细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO ₂ ；37℃
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	12~24 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196℃）

B16BL6 细胞经本产品培养后在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4℃冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需按包装指定温度保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4℃保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能良好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
4. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®B16BL6 细胞系完全培养基（货号：CMM5-1801）
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

操作步骤

1. 配制前至少 6 h，将套装中的 OriCell®标准级胎牛血清放置于 4℃冰箱内完全融化。

注意：融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果。

若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高，我们不建议过滤或离心去除絮状物。

2. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
3. 将血清全部加入 OriCell®细胞基础培养基中。
4. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

注意：1) 若短期内无法用完全部培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；

剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融；

2) 请根据自己需求选择是否添加抗生素，如需添加请自购。

5. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

注意：OriCell®细胞系完全培养基套装内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。

若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。

细胞的复苏和培养

所需材料

- B16BL6 细胞（需自购）
- OriCell® B16BL6 细胞系完全培养基（货号：CMM5-1801）

操作步骤

注意：当自购细胞为冻存细胞时，收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意：若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因。

13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- B16BL6 细胞（需自购）
- OriCell® B16BL6 细胞系完全培养基（货号：CMM5-1801）
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意：当自购细胞为活细胞时，请进行以下检查：

- 1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；
- 2) 检查培养基是否浑浊；
- 3) 瓶身有无裂痕；
- 4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况，请及时与厂家联系。

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查细胞是否出现大面积脱落，或大量死细胞。
4. 若一切正常，请将细胞培养瓶放入 CO₂ 培养箱内，静置至少 2 h，使运输过程中震落的细胞重新贴壁。
5. 从培养箱中取出细胞，镜下检查有无异常。
6. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，吸取至少 2 份 1 mL 培养基至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

注意：留样的细胞培养基请放置 4℃冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 弃去多余的培养基，1 个 T25 培养瓶中保留 10 mL 培养基即可。
8. 将细胞放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
9. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® 0.25% Trypsin-0.04% EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- OriCell® B16BL6 细胞系完全培养基 (货号: CMM5-1801)

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证充分接触细胞表面。
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. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 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. 使用吸管或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, 否则可能损伤和损失细胞。

8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按 $(2\sim3) \times 10^4$ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 B16BL6 细胞传代比例 1:3~1:5, 48 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞汇合度至 95% 以上, 即需传代或冻存。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell®通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell®通用血清型非程序冻存液（货号：NCRC-10001）

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 B16BL6 细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意：在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4℃冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell®非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入-80℃冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是冻存的前 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在-80℃冰箱中。我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过48 h。

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

**没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，
不得改编或转载用作其他商业用途。**