

## HCT116-LUC/人结肠腺癌细胞-荧光素酶标记

### 基本信息

|           |   |
|-----------|---|
| 细胞名称      | HCT116-LUC/人结肠腺癌细胞-荧光素酶标记   |
| 细胞编号      | ml-CC2189   |
| 细胞品牌      | 酶联生物  |
| 细胞简介      | <p>Luciferase HCT 116 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。HCT 116 细胞是由 M&amp;middledot;Brattain 等人于 1979 年从患结肠癌的男性病人中分离的三株恶性细胞中的一株。HCT 116 细胞在半固体琼脂糖培养基中形成克隆；HCT 116 细胞在无胸腺裸鼠有致瘤性，形成肿瘤结节。</p> |
| 活性检测报告    | 见附件 1   |
| 细胞规格      | 1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管   |
| 种属来源      | 人   |
| 组织来源      | 结肠  |
| 细胞形态      | 上皮细胞样   |
| puro 药筛浓度 | <p>HCT116-LUC 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml，培养过程中可不用再添加 puro，如若担心抗性随着传代时间降低，可定期用 0.5ug/ml 浓度 puro 维持</p>   |

|       |  |
|-------|--|
| 细胞代数  | p3-p8  |
| 生物安全等 | 1  |
| 生长特性  | 贴壁生长   |
| 培养条件  | 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C                         |
| 保藏机构  | ATCC; CCL-247 BCRC; 60349 BCRJ; 0288 DSMZ; ACC-581 |
| 培养基   | McCoy's 5a+10% FBS+PS                              |
| 冻存条件  | 无血清冻存液, 液氮储存                                       |
| 细胞货期  | 现货, 1 周左右  |
| 发货方式  | 复苏发货 (T25 瓶免运输费用) / 冻存发货 (需加干冰运输费用)                |
| 供应范围  | 仅限于科研实验使用, 不可用于其它用途                                |

## 细胞培养操作

### T25 瓶

#### 收货处理：

观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定

细胞状态

#### 传代密度：

细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养

#### 传代比例：

首次传代建议 1: 2 传代, 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是

1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿

**传代方法：**

- a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
- b、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02%EDTA) 于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37°C 培养箱中消化 1-3 min (视细胞情况而定)，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，用胰酶轻轻吹下来后，迅速后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。
- c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。

**注意事项：**

1. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。
2. 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。

**冻存管****收货处理：**

到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏

**传代密度：**

第二天换液并检查细胞密度

**传代比例：**

一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶

**传代方法：**

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。

在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 6 cm 皿中, 加入约 4 mL 培养基, 培养过夜) 第三天换液并检查细胞密度。

#### 注意事项 :

1. 收货时若发现干冰化完, 检查冻存管是否融化, 若已融化需直接离心细胞接种观察, 若未融化可以将细胞按正常步骤保存。
2. 为保证细胞的高存活率, 收到产品后, 请立即解冻复苏细胞。

## 细胞冻存操作

#### 冻存液配方 :

无血清冻存液, 液氮储存

#### 细胞密度 :

待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例

#### 冻存方法 :

- a、收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 加 1 mL 血清重悬细胞, 进行细胞计数。
- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$ , 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1 mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入  $-80^\circ\text{C}$  冰箱, 24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

#### 注意事项 :

冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性, 若有异常, 及时调整实验方案

## 售后服务

### 细胞予重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 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，经核实后，重发。

### 细胞不重发

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. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。

## 特别说明

客户买细胞就找 **上海酶联生物**，稳定传代，无污染，包存活，提供整体课题外包服务，光学成像，流式实验，电镜实验，动物实验，病理实验，分子生物学实验，细胞实验等，严

格把控产品质量, 所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查, 为科研人员提供可靠放心的产品。

## 附件 1(HCT116-LUC 活性检测报告)

### 检测细胞

HCT116-LUC

### 实验仪器及耗材

| 名称             | 来源     |
|----------------|--------|
| 高速冷冻离心机        | 湘仪     |
| IVIS Lumina II | 精诺真    |
| 移液器            | Thermo |
| 200 $\mu$ l 吸头 | NEST   |
| 1.5 ml 离心管     | NEST   |

### 实验步骤:

1. 消化下细胞并计数, 将之重悬为  $10^5$ /mL, 取 100  $\mu$ L 加入 96 孔化学发光板, 并梯度稀释, 使得每孔细胞数量为 1000 个, 5000 个, 2500 个。
2. 每孔加入 100  $\mu$ L 300 $\mu$ g/mL Beetle Luciferin。
3. 2 min 后将板放入 IVIS Lumina II 进行成像。

### 检测结果:

