

人结肠癌细胞-绿色荧光标记-荧光素酶标记 ; HCT116-LUC-GFP

仅供科研实验使用

细胞简介

细胞名称	人结肠癌细胞-绿色荧光标记-荧光素酶标记 ; HCT116-LUC-GFP
细胞别称	HCT116-LUC-GFP
细胞规格	1×10 ⁶ cells/T25培养瓶或者1mL冻存管包装
细胞来源	人
细胞品牌	金少源生物
年龄性别	男
组织来源	结直肠癌
生长特性	贴壁生长
细胞形态	上皮样
背景简介	HCT116是1979年M.Brattain等从患结肠癌的男性病人中分离的三株恶性细胞之一。 在半固体琼脂糖培养基中形成克隆。HCT116在无胸腺的裸鼠有致瘤性，形成上皮样的肿瘤。
生物安全等级	-
支原体检测	无
培养基	McCoy's 5A+10%优质胎牛血清+1%双抗
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
倍增时间	24 - 30小时

细胞筛选

该细胞为已经稳定转染LUC-GFP的细胞，随细胞传代次数的增加，其LUC-GFP荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。细胞经过20 μ g/ml嘌呤霉素筛选，平时培养可维持10 μ g/ml嘌呤霉素。

细胞接收后的处理

- 1、收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于室温放置约1h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 2、请在4或5X显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10 \times ，20 \times ）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3、贴壁细胞：**细胞在室温中放置1h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。**若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。
- 4、细胞运输途中脱落操作方法：把脱落的细胞收集离心后弃上清，用PBS清洗一遍，离心弃上清，在离心管中加入1ml胰酶吹散消化20秒左右，加完全培养基终止消化后离心重新铺平，剩下的贴壁细胞就按照正常贴壁细胞传代方法操作。
- 5、**备注：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。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。**

细胞培养操作

- 1、复苏细胞：以下细胞培养冻存处理仅供参考，具体操作步骤以随货产品说明书为主。

将含有1 mL细胞悬液的冻存管在 37 $^{\circ}$ 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完全培养基，培养过夜）。第三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。

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1-3min（视细胞消化情况而定），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，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加2-3ml完全培养基终止消化。

c) 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。

d) 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。

贴壁细胞传代注意点

1、一定要PBS洗一遍。

2、细胞多观察几次掌握时间，不要在细胞没有基本脱落就终止消化然后吹打下来，这样细胞更容易分化和死亡。

3、不要一直对细胞吹打。

4、细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例；

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，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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL，轻轻混匀，每支冻存管冻存1mL细胞悬液，注意冻存管做好标识。

c) 将冻存管放入-80°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。

培养注意事项

细胞出现问题，予以重发情况

a) 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发；

b) 细胞污染问题，请在收到产品3 天内，给我们提出真实的实验结果，核实后重发；

- c) 常温发货的细胞静置2小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后2 天后，绝大多数细胞未存活，（需提供真实清晰的细胞状态照片），重发；
- d) 干冰冻存发货的细胞复苏后2天后或常温发货的细胞静置2小时后并且未开封，出现污染，重发；
- e) 细胞活性问题，请在收到产品7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，和每天的细胞照片，核实后予重发；
- f) 细胞收到当天以及第2,3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题需提供收到细胞前3天照片和细胞出现问题的照片以及细胞相关操作的详细步骤，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。

细胞出现问题，不予以重发的情况

- a) 客户操作造成细胞污染，不重发；
- b) 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发；
- c) 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发；
- d) 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；
- e) 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发；
- f) 收到细胞并发现问题与客服人员沟通的时间证明大于7 天的，不重发；
- g) 视具体情况而定。

注意事项

- 1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。**注意：**冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。
- 3、该细胞仅供科研使用！说明书仅供参考以实际到货说明书为准！

金少源(上海)生物科技有限公司

地址：上海市松江区漕河泾开发区7栋

电话：4008-723-722

手机：17301775915

邮箱：2881917721@qq.com