

人结肠癌细胞  
**(HCT 116)**

**细胞介绍**

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。

**细胞特性**

- 1) 来源：结直肠癌
- 2) 形态：上皮细胞样
- 3) 含量： $>1\times10^6$  个/mL
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25瓶或者1mL冻存管包装

**运输和保存：**可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1)干冰运输，收到后立即转入液氮冻存或直接复苏；(2)存活细胞，收到后应继续生长，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。

**细胞用途：**仅供科研使用。

**细胞培养步骤**

**1) 培养基及培养冻存条件准备：**

1. 准备 McCoy's 5A 培养基(McCoy's 5A, GIBCO, 货号 16600-082); 北美胎牛血清，10%; 双抗 1%。
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%血清，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

**2) 细胞处理：**

1. 复苏细胞：将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C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10cm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：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

加入2mL消化液(0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于37°C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。

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 培养液后吹匀。

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。

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：

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。

1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。

本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。

将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。