

OriCell®

细胞产品手册

OriCell® HCT-15
人结肠癌细胞系
产品货号：H1-2901



We help you discover life

产品介绍

人结肠癌细胞系（HCT-15）从男性结直肠癌患者的大肠中分离的细胞，HCT-15 细胞呈 CSAp 阴性 (CSAp-)；HCT-15 角蛋白免疫过氧化物酶染色阳性。

HCT-15 常用于结肠癌的研究，如探究 PU-H71 对 HCT-15 细胞增殖、凋亡、周期等生物学行为的影响，发现 PU-H71 可使细胞 G2 周期阻滞并诱导凋亡，可能通过负向调控 JAK-STAT3 途径来调控线粒体信号通路，影响凋亡和周期相关因子的表达。

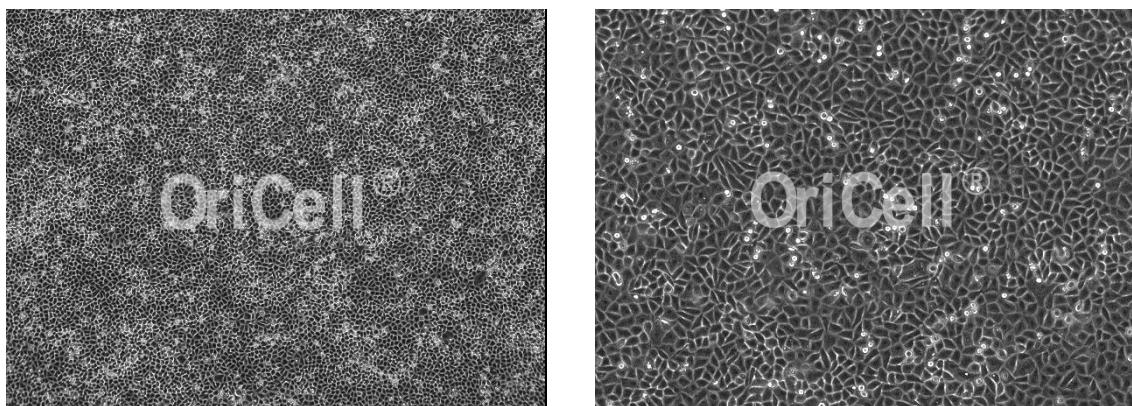
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	人结肠癌细胞系
简称	HCT-15
别称	HCT 15、HCT.15、HCT15
货号	H1-2901
规格	1×10 ⁶ 个/管 或 1×10 ⁶ 个/瓶
组织来源	人结直肠
细胞特性	贴壁生长；上皮细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO ₂ ；37°C
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	24~48 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮 (-196°C)
注意事项	—

注意：本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

OriCell® HCT-15 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



成瘤数据验证

Fig. The Tumor Growth Curves of HCT-15 Cancer Xenograft Model

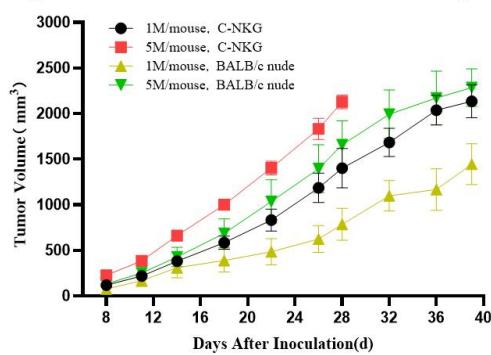


Fig. The Body Weight Changes of HCT-15 Cancer Xenograft Model

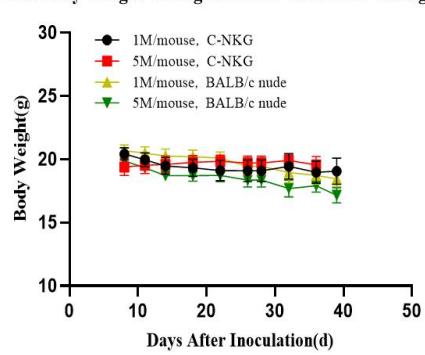


图 1. 结肠癌细胞 HCT-15 皮下移植肿瘤体积生长曲线及小鼠体重变化曲线 (n=6)。

将细胞以皮下注射的形式接种到 7 周的 C-NKG 和 BALB/c nude 小鼠体内，并在不同的时间点测量成瘤体积。细胞接种量为 5×10^6 /只和 1×10^6 /只，数据以 Mean \pm SEM 形式呈现。结果显示 HCT-15 在 C-NKG 和 BALB/c nude 容易成瘤，体重有所下降，该模式是轻度恶病质模型。肿瘤体积预计在接种后 5-8 天达到 $100-200\text{mm}^3$ ，在接种后 28-36 天达到 2000mm^3 实验终点，给药窗口期预计在 21-28 天左右。

使用本细胞发表的文献需注明：

HCT-15 cell lines (OriCell, Catalog H1-2901) were purchased from Cyagen Biosciences (Guangzhou) Inc.

质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 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、超净台和培养箱的清洁。
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. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素 (双抗)	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® HCT-15 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80°C冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80°C，让管中液氮挥发。

操作步骤

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C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。

- 注意：**请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。
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. 摆匀细胞，放入 37°C、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，并与我们联系。
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

- OriCell® HCT-15 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意: 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, 请及时与我们联系。

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, 使运输过程中震动脱落的细胞重新贴壁。
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°C 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°C、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)
- 适宜细胞生长的完全培养基

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(2~3) ×10⁴ 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 OriCell® HCT-15 细胞传代比例为 1:3~1:5, 72 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. 摆匀细胞, 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 OriCell® HCT-15 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°C 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，可将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是开始冻存的 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°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 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。