

细胞产品手册

OriCell[®] NCI-H69

人小细胞肺癌细胞系

产品货号: H0-2501



产品介绍

人小细胞肺癌细胞系（NCI-H69）来源于一名 55 岁患有小细胞肺癌的白人男性的胸腔积液转移病灶，细胞非整倍体，能在软琼脂中形成集落并保留小细胞癌形态和超微结构以及 APUD 细胞特征。该细胞聚团生长，因此无法准确计数，可适应在摇瓶或旋转瓶系统中生长。细胞角蛋白染色呈阳性。

NCI-H69 常用于 Bcl-2 反义核酸增强三氧化二砷诱导 NCI-H69 肺癌细胞凋亡、清热化痰散结方及其拆方抑制人肺癌细胞 SK-MES 和 NCI-H69 PI3K-Akt-mTOR 信号转导的研究等。

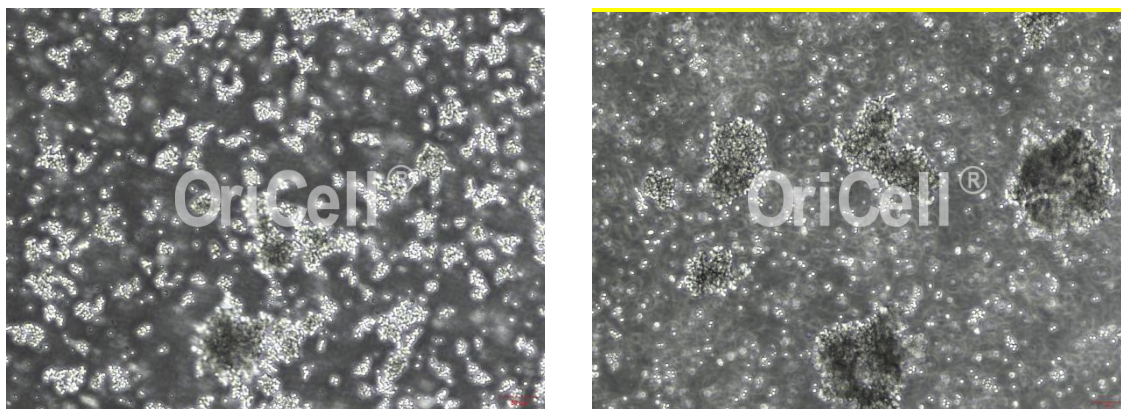
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	人小细胞肺癌细胞系
简称	NCI-H69
别称	NCI-H-69、NCI H69、H69、H-69、NCIH69、NCI-HUT-69、H69/P、NCI-H69C、H69C、H69c
货号	H0-2501
规格	1×10 ⁶ 个/管 或 1×10 ⁶ 个/瓶
组织来源	人肺脏
细胞特性	悬浮聚团生长；淋巴母细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO ₂ ；37℃
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	24~48 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196℃）
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® NCI-H69 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 NCI-H69 Cancer Xenograft Model

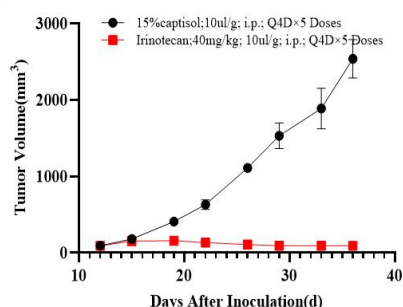


Fig. The Body Weight Curves of NCI-H69 Cancer Xenograft Model

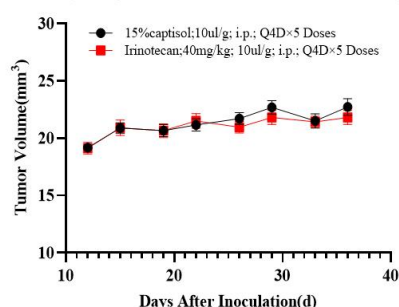


图 1. 肺癌细胞 NCI-H69 皮下移植肿瘤体积生长曲线及小鼠体重变化曲线 (n=7)。

将细胞以皮下注射的形式接种到 7 周的 C-NKG 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，数据以 Mean $\pm$ SEM 形式呈现。肿瘤平均值达到 100 mm³ 挑选合适的小鼠入组，分成 2 组，第一组是溶媒对照组，第二组为 Irinotecan (40 mg/kg) 单剂量组，腹腔给药，每 4 天 1 次，给药 3 周。结果显示 NCI-H69 在 C-NKG 容易成瘤。肿瘤体积预计在接种后 11 天达到 100-200mm³，在接种后 36 天达到 2000mm³ 实验终点，给药窗口期预计在 21 天左右。给药第 21 天，对照组平均肿瘤体积为 2539.7 mm³，Irinotecan (40 mg/kg) 单剂量组为 92.41mm³，肿瘤抑制率 TGI_{TV}(%)为 96.4%，与对照组肿瘤体积统计学上有显著性差异(p 值 < 0.001, T-test)；结果表明 Irinotecan (40 mg/kg) 单剂量从肿瘤体积曲线趋势和 TGI 有抑制 NCI-H69 皮下移植肿瘤增殖的药效活性。

*伊立替康（Irinotecan）为半合成水溶性喜树碱类衍生物。本品及其代谢产物 SN38 为 DNA 拓扑异构酶I抑制剂，其与拓扑异构酶I及 DNA 形成的复合物能引起 DNA 单链断裂，阻止 DNA 复制及抑制 RNA 合成，为细胞周期 S 期特异性。。

使用本细胞发表的文献需注明：

NCI-H69 cell lines (OriCell, Catalog H0-2501) 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。本产品需使用适合悬浮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® NCI-H69 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℃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。

操作步骤

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 140×g 离心 5 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. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
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。
13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® NCI-H69 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
- 两个无菌的 50 mL 离心管

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，检查是否出现大量死细胞。
4. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，将细胞悬液均分，转移到两个 50 mL 离心管内。
5. 细胞悬液以 $140\times g$ 离心 5 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。

6. 吸取至少 2 份 1 mL 离心上清至无菌的 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. 弃去多余的离心上清，加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
8. 将细胞按 $1.0\sim 2.0\times 10^5$ cells/mL 的密度接种到培养器皿中，加入足量的完全培养基。
9. 摇匀细胞，将放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
10. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

细胞的换液

所需材料

- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

注意：为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。

换液时只取当天所需培养基量进行预热。

1. 镜下观察细胞，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管中。
3. 降低离心力为 $140\times g$ ，将细胞悬液离心 4 min 后，去除上清液。
4. 向细胞沉淀物加入 1 mL 完全培养基，轻轻重悬细胞。
5. 将细胞悬液移入一个新的培养器皿中。
6. 加足量的培养液，在 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 、饱和湿度的培养箱中培养。
7. 之后，视培养液情况和细胞的生长情况，予以换液或传代。一般隔天换液。

传代时机判断

一般情况下，人小细胞肺癌细胞NCI-H69在培养2~3天后进行传代。

细胞的传代

所需材料

- 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. 将完全培养基预热至 37°C。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管。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。
3. 收集的所有细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
4. 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。
8. 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 OriCell® NCI-H69 细胞传代比例为 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。

5. 摇匀细胞, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。
6. 传代次日, 观察细胞状态。给传代的细胞换用新鲜的完全培养基 (已预热到 37°C)。
7. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞生长至合适密度, 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. 细胞收集请参考 OriCell® NCI-H69 细胞的传代操作步骤 1~3。
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，可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℃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。