

HCT-15/Taxol 人结肠癌紫杉醇耐药株

Paclitaxel-resistant human colon cancer ,HCT15/Taxol

细胞介绍

注：本培养基是不直接添加紫杉醇药物的。如果客户需要直接添加的我们可以按照客户的意愿添加紫杉醇药物。

细胞特性

- 1) 来源：人结肠癌
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

运输和保存

干冰运输及复苏好存活细胞

- (1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，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。
- (2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

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 37℃ 培养箱放置约 2-3h，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×，20×）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 37℃ 培养箱中放置 2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快速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。

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。

一. 培养基及培养冻存条件准备

注意：客户收到细胞后按照下面的要求操作：培养瓶里面的培养液是不含药物的。待细胞长到 70-80% 的汇合度时，去掉培养液，加入含 500ng/ml Taxol 药物的培养液，放入培养箱，这段时间肯定会有小部分细胞悬浮起来，但是不要紧，通过换液可以去掉，下面的细胞待长满就可以消化传瓶了，这

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



时可以直接用含药培养液来消化培养细胞，一两代之后可以将药物浓度提高到 1000ng/ml，含药培养液用于细胞培养都没问题的，冻存的时候就不要在冻存液里面加药物了。

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基；优质胎牛血清，10%；添加 500ng/ml 紫杉醇；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。

二. 细胞处理：

1) 冻存细胞的复苏：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

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以参考以下方法：

1、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

2、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

3、轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存：收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例：

1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2、1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

