

**LOVO/5-FU 人结直肠癌细胞氟尿嘧啶耐药株**

LOVO/5-FU human colorectal cancer cell line fluorouracil resistant strain

**细胞介绍**

LOVO/5-FU 为由 LOVO 细胞构建的耐 5-FU 药物细胞株。

**细胞特性**

- 1) 来源：人结直肠癌细胞耐药筛选
- 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。

**细胞处理**

- 1、收到细胞后，若发现培养瓶破损、漏液及细胞有污染；或冻存管有破损，融化、漏液等，请立即拍照并联系我们。照片包括细胞培养瓶/冻存管外观，显微镜下细胞照片（100 倍，200 倍各 2 张）；
- 2、若收到的复苏细胞有少量细胞脱落、飘起，可能由于运输途中导致。请先于 37℃ 恒温细胞培养箱中静置 2~3h 后，再进行处理；
- 3、复苏细胞的充液培养基为不含药物的维持培养基，血清浓度较低，收到细胞后请及时更换为完全培养基；
- 4、**建议收到细胞后，首先进行扩增（至少 3 代），并冻存部分细胞以备用。**
- 5、初次培养，当细胞汇合度达约 80% 时，可加入含 5-FU 的完全培养基培养至细胞完全融合后传代。若细胞传代过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度达 80% 左右，且生长状态较好时，再更换为所需的 5-FU 药物浓度。
- 6、细胞冻存过程中，不可添加药物，且冻存液中不含药物。

**细胞培养试剂的配制****1) 5-FU 药物的配制及保存**

建议将 5-FU 药物配制成 160mM 的母液。

**注意：可根据用量配制药物，并将药物分装保存，避免反复冻融导致药物失效。**

**2) 冻存液的配制**

90% 优质胎牛血清+10%DMSO，现用现配。（冻存液中不含药物）

**3) 完全培养基的配制**

网址：[www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



成分	体积/浓度
优质胎牛血清	10%
双抗	1%
160uM 5-FU	0.1% (160mM 母液)
F12K 培养基	补充至所需体积

### 细胞培养条件

气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，培养箱湿度为70%~80%。

### 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，1000rpm/min离心3~5min，弃去上清液。加入1mL完全培养基重悬细胞后，均匀铺于含6~8mL完全培养基的培养瓶（或皿）中，置于37℃恒温细胞培养箱中过夜培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

**注意：**①细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞生长至汇合度达80%左右时，方可添加5-FU药物；若细胞生长状态较为缓慢，可适当降低5-FU的浓度（首次降低一半药物浓度），或使用不含5-FU的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的5-FU浓度。

②建议复苏细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩，避免冻存管处于温差较大情况下发生爆炸，造成人员伤害。

#### 2) 细胞传代（建议以同等底面积的培养瓶/皿按照1：2比例传代）

①待细胞密度达到80%~90%时，即可进行传代培养。

②弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1次，吸净残余的PBS。

③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2~5min，显微镜下观察细胞大部分变圆并脱落，即可轻拍培养瓶至细胞全部脱落。迅速拿回操作台，加入2倍体积的、含10%FBS的培养基中止消化。

④将细胞悬液移入离心管中，1000rpm/min离心5min，弃去上清液。

⑤向细胞沉淀中加入1~2mL完全培养基重悬细胞，轻吹混匀。将细胞悬液按1：1的比例均匀铺于2个新的培养瓶/皿中，添加6~8mL完全培养基。

**注意：**若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度约80%，且生长状态较好时，再更换为所需的5-FU药物浓度。

#### 3) 细胞冻存

①细胞冻存时，步骤同2)细胞传代的①~④，细胞计数后，加入配制好的细胞冻存液，重悬细胞，按照 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞/mL分配到一个冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

**注意：**细胞冻存过程中，不可添加药物。

②将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80℃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。

网址：[www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路248号11层

