

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°C 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

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

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层

