

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： $>5 \times 10^5$ 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。

细胞运输、保存及注意事项

	复苏细胞	冻存细胞
包装	充液的 T25 细胞培养瓶	1mL 冻存管
运输条件	常温	干冰
保存方式	37℃ 恒温细胞培养箱	-80℃ 冰箱中保存过夜后转入液氮或立即复苏

※注意事项

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。请先置于室温中静置 1h 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

无血清细胞冻存液。（冻存液中不含药物）

3) 完全培养基的配制

成分	体积/浓度
上海葵赛生物科技有限公司	

特级胎牛血清	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。