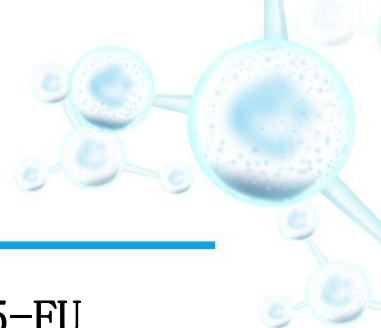




人结肠癌细胞氟尿嘧啶耐药细胞 HCT-15/5-FU

说明书

货号 VCA00003

一、产品信息：

中文名称：人结肠癌细胞氟尿嘧啶耐药细胞

细胞简称：HCT-15/5-FU

细胞形态：上皮细胞样，贴壁生长

细胞描述：HCT-15/FU 为由 HCT-15 细胞构建的耐 5-FU 药物细胞株。

物种：人

组织来源：结直肠腺癌

完全培养液配方：RPMI-1640 培养基+10%胎牛血清 FBS+1%青霉素-链霉素
P/S+0.1%药物母液（20mg/mL）

培养条件：气相：空气 95%，二氧化碳 5%；温度：37 摄氏度。

传代周期：2-3 天（根据实际生长速率调整）

传代比例：1:2

换液频率：2-3 天

冻存液配方：完全培养液 90%，DMSO 10%

5-FU 药物的配置：将 5-FU 药物配制成 20mg/mL 的母液，即使用 1mL 1M 的 NaOH 溶液溶解 20mg 5-FU 药物，使其完全溶解。（若所购买的 5-FU 药物规格为 10mg，则加入 0.5mL 1M 的 NaOH 溶液，待其完全溶解即为 20mg/mL 母液）

二、细胞接收后的处理：

1 核对信息和检查包装

收到细胞后，请先核对细胞培养瓶或冻存管上标注的细胞名称是否与所订购的细胞名称一致，若发现培养瓶破损、有液溢出或干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。





2 冻存细胞:

在确认包装完整（干冰）标签无误后，请将收到的细胞冻存管转移至-80℃低温冰箱或液氮罐中保存，并尽快安排复苏。

（1）请严格按照说明书中推荐的培养条件复苏细胞（如有任何疑问请联系我们）

（2）若第一支细胞复苏后出现异常，请在与我们取得联系之前，切勿再复苏第二支。

3 复苏细胞:

核对细胞信息无误和包装完整之后，请进行如下操作：

（1）用 75%酒精棉球仔细擦拭 T25 细胞培养瓶外部两次。不要打开培养瓶盖，在显微镜下确认细胞是否污染并拍照留存（若污染请及时联系我们），然后将细胞放入 37℃培养箱中静置 2-3 小时以稳定细胞状态（细胞因沿途运输或温度较低而出现皱缩等现象，属正常情况）。

（2）静置结束后，取出培养瓶在 4×或 5×显微镜下再次确认细胞状态，同时给细胞（10×，20×）镜下各拍照 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为后续服务的重要依据（建议细胞收到后前 1-2 周定期拍照，记录细胞生长状态）。

（3）贴壁细胞首次传代：细胞在 37℃培养箱中放置 2-3h 后，若镜下观察细胞的生长密度在 60%以下，吸去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 5mL，放回培养箱中继续培养；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，若有因运输振动脱落的细胞则需要离心回收。

温馨提示:

（1）初次培养，当细胞汇合度达约 80%时，可加入 10-16ug/mL 5-FU 的完全培养基培养至细胞完全融合后传代。细胞传代 1 至 2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 20ug/mL 继续培养；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。

（2）细胞冻存过程中不可添加药物





三、细胞复苏

- 1、从液氮中取出细胞冻存管，快速将其置入 37℃ 水浴中摇晃解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75% 的酒精擦拭冻存管外壁，转移至操作台。
- 2、将冻存管中的细胞移至含 2mL 完全培养基的 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，沉淀用 1-2mL 完全培养基重悬，接种至 T25 培养瓶，于 37℃,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。

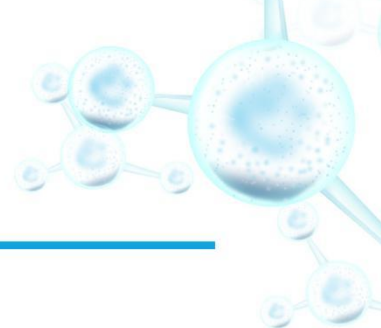
注意：细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞生长至汇合度达 80% 左右时，才可添加 10-16ug/mL 5-FU 药物；若细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 5-FU 的浓度（首次降低一半药物浓度），或使用不含 5-FU 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的 5-FU 浓度。

四、细胞传代

- 1、当细胞生长至覆盖培养瓶的 80-90% 面积时可以传代操作，先吸去原培养液，再用 PBS 清洗 1-2 次，轻轻晃动瓶身使 PBS 充分接触细胞。细胞清洗后将 PBS 吸干净。
- 2、添加 0.25% 胰蛋白酶消化液约 1mL 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 2mL 完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，沉淀细胞用 1-2mL 完全培养基重悬，然后按需要的比例进行分瓶传代，补充新的完全培养基至细胞培养瓶（约 5mL 左右），最后放入 37℃,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。

注意：细胞传代 1 至 2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 20ug/mL 继续培养；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。





五、细胞冻存

- 1、当细胞生长至覆盖培养瓶的 80-90% 面积时可以冻存，先吸去原培养液，再用 PBS 清洗 1-2 次，轻轻晃动瓶身使 PBS 充分接触细胞。细胞清洗后将 PBS 吸干净。
- 2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1mL 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 2mL 完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 5mL 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，细胞沉淀加入 1mL 配好的细胞冻存液，重悬后加入冻存管中。
- 4、将冻存管放入程序冻存盒（每分钟降 1℃）转移至-80℃冰箱过夜；次日转移至液氮长期保存。

注意：细胞冻存过程中不可添加药物。

六、声明

本库的细胞系（株）仅用于科研，不得用于诊断治疗。

