



LLC-GFP/小鼠 Lewis 肺癌细胞-绿色荧光蛋白标记

细胞培养操作

| | |
|-----------|--|
| 细胞名称 | LLC-GFP/小鼠 Lewis 肺癌细胞-绿色荧光蛋白标记 |
| 货号 | TW-CC3778 |
| 细胞品牌 | 通蔚生物 |
| 种属来源 | 小鼠 |
| 组织来源 | 肺 |
| 生长特性 | 半贴壁生长 |
| 细胞形态 | 上皮细胞样 |
| 细胞简介 | Luciferase LLC 细胞稳定表达荧光蛋白。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作荧光蛋白活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。LLC 细胞是小鼠 Lewis 肺癌细胞。 |
| puro 药筛浓度 | LLC-GFP 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml，培养过程中可不用再添加 puro，如若担心抗性随着传代时间降低，可定期用 0.5ug/ml 浓度 puro 维持 |
| 保藏机构 | ATCC; CRL-1642 BCRC; 60050 BCRJ; 0145 ECACC; 90020104 |
| 生物安全等级 | 1 |
| 细胞规格 | 1x10 ⁶ cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管 |
| 培养基 | 90% DMEM+10% FBS+PS |
| 培养条件 | 气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃ |
| 冻存条件 | 无血清冻存液，液氮储存 |
| 细胞货期 | 现货，1 周左右 |
| 发货方式 | 复苏发货（T25 瓶免运输费用）/ 冻存发货（需加干冰运输费用） |
| 供应范围 | 仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用 |



| T25 瓶 | |
|--------------|---|
| 收货处理 | 观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁，将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h，以便稳定细胞状态 |
| 传代密度 | 细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养 |
| 传代比例 | 首次传代建议 1: 2 传代，1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿 |
| 传代方法 | <p>a、收集细胞培养上清：抽出瓶中的培养基和悬浮的细胞 1000rpm 离心 5 分钟，弃去上清，细胞重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。</p> <p>b、剩下贴壁的细胞，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1 次。</p> <p>c、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37°C 培养箱中消化 1 min，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少量培养基终止消化。</p> <p>d、按 3mL/瓶补加培养基，轻轻打匀吹下细胞后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p>e、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养中。</p> |
| 注意事项 | <p>1.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。</p> <p>2.因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。</p> |
| 冻存管 | |
| 收货处理 | 收到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏 |
| 传代密度 | 第二天换液并检查细胞密度 |
| 传代比例 | 一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶 |
| 传代方法 | 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。 |
| 注意事项 | <p>1.收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</p> <p>2.为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。</p> |

细胞冻存操作

| | |
|-------|-------------------------------|
| 冻存液配方 | 无血清冻存液，液氮储存 |
| 细胞密度 | 待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例 |



| | |
|------|---|
| 冻存方法 | <p>a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p>c、将冻存管放入 -80°C 冰箱，24 h 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p> |
| 注意事项 | 冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案 |

售后服务

| | |
|------------|--|
| 细胞予 重发 | 1.细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。 |
| | 2.收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。 |
| | 3.收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。 |
| | 4.常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。 |
| | 5.常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。 |
| | 6.细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。 |
| 细胞不予 重发 | 1.客户操作造成细胞污染，不重发。 |
| | 2.客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。 |
| | 3.非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。 |
| | 4.细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。 |
| | 5.细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。 |
| | 6.收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。 |
| 特别说明 | 上海通蔚生物客户在细胞培养过程中,有任何技术问题可以拨打免费服务电话： 021-54845833 ,我们随时给予实验中的免费解答。 |



本细胞仅供科研使用，不得用于其他用途 订购热线：021-54845833/15800441009