

LLC-GFP 小鼠肺癌细胞-绿色标

使用说明书

细胞名称 Cell name	LLC-GFP 小鼠肺癌细胞-绿色标记
货号 NO.	GZQ0049
描述 Description	小鼠 Lewis 肺癌细胞。
种属 Species	小鼠
组织来源 Tissue	肺
形态 Morphology	其他
培养特性 Culture Properties	贴壁
传代比例 Subcultivation Ratio	建议首次传代 1:2 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 LLC 细胞稳定表达绿色荧光蛋白(Green Fluorescent Proteins)，感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行细胞体外分析，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro (0.5-1ug/ml) 的完全培养基维持培养，请务必在动物实验前再次进行检测，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基： DMEM 高糖（中乔新舟 货号： ZQ-100 ）+10%胎牛血清(中乔新舟 货号： AU0600)+1%双抗(sciencell 品牌 货号： CSP006) 配套完全培养基： （中乔新舟 货号: ZQ-120 ） 温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	注意:1. 低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃ 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2. 提前室温预热培养基。 3. 复苏 24 小时后换液是为了去除冻存液中 DMSO，请放心操作。 1. 在无菌区准备好 T-25 培养瓶加入约 5ml 培养基。 2. 将冻存管放入 37℃ 水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出，擦干并用喷洒 75%乙醇，移至无菌区。 3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的培养瓶中。 注意:由于本公司采用 Sciencell 公司冻存液，因此不建议在解冻后进行细胞稀释和离心。

	<p>4.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>5.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p> <p>6.过夜后，观察细胞形态并更换培养基(去除冻存液)。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>（一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次， 2.加入 1.0ml 胰酶消化液，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入等量或双倍的含 10%血清的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液， 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散， 4.加入新鲜培养液重悬细胞，进行传代、冻存， 5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 <p>注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</p> <p>2.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</p> <p>3.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心吹打后接种到新瓶内；</p> <p>4.收到细胞后，若发现培养瓶破损、漏液及细胞污染，请及时与我们联系。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>经供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。 2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 3.细胞漂浮：培养瓶不开封，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。