

## LLC-GFP/小鼠 Lewis 肺癌细胞-绿色荧光蛋白标记

### 基本信息

|           |  |
|-----------|--|
| 细胞名称      | LLC-GFP/小鼠 Lewis 肺癌细胞-绿色荧光蛋白标记   |
| 细胞品牌      | 酶联生物   |
| 细胞简介      | Luciferase LLC 细胞稳定表达萤光蛋白。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作萤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。<br>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。 |
| 细胞规格      | 1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管  |
| 种属来源      | 小鼠   |
| 组织来源      | 肺  |
| 细胞形态      | 上皮细胞样  |
| 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  |
| 生物安全等级    | 1  |
| 生长特性      | 半贴壁生长  |
| 培养条件      | 气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃   |
| 保藏机构      | ATCC; CRL-1642 BCRC; 60050 BCRJ; 0145 ECACC; 90020104  |
| 培养基       | 90% DMEM+10% FBS+PS  |

|      |                                   |
|------|-----------------------------------|
| 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，不可用于其它用途                |

## 细胞培养操作

### T 25 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：

- 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）。
- 剩下贴壁的细胞，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1 次。
- 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℃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。

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。

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。

#### 注意事项：

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。

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。

## 冻存管

#### 收货处理：

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（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL

培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。

**注意事项：**

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。
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。

**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：**

- 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，加 1 mL 血清重悬细胞，进行细胞计数。
- 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 1 mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入  $-80^\circ\text{C}$  冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

**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, 干冰冻存发货的细胞复苏 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

客户买细胞就找上海酶联生物, 稳定传代, 无污染, 包存活, 提供整体课题外包服务, 光学成像, 流式实验, 电镜实验, 动物实验, 病理实验, 分子生物学实验, 细胞实验等, 严格控制产品质量, 所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查, 为科研人员提供可靠放心的产品。