小鼠肺癌细胞带绿色荧光 LLC+GFP

细胞详述：LLC细胞是小鼠Lewis肺癌细胞。

种属	小鼠
细胞别称	LLC+GFP
细胞来源	小鼠肺癌组织
疾病	Lewis肺癌
传代比例	1:2-1:3传代,悬浮部分离心收集(1000RPM,5分钟)，贴壁部分消化1-3分钟
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37摄氏度，培养箱湿度为70%-80%。
完培配置	DMEM 培养基；10%胎牛血清； 1%双抗
细胞形态	上皮细胞样，圆形，松散附着或漂浮
生长特征	贴壁，悬浮混合生长
倍增时间	~20h
抗原表达	Yes, in C57BL mice.
致瘤性	H-2b
冻存条件	冻存液：90%FBS，DMSO 10%,或使用非程序冻存液：
注意事项	该细胞是通过慢病毒转染的稳转株，收到细胞传代8代左右后，若要求需要维持荧光强度，建议可以加入嘌呤霉素进行 再次筛选,该细胞为半悬浮和半贴壁细胞，悬浮细胞离心收集，贴壁细胞消化处理
细胞接收	1：观察有无破损漏液情况 ， 如有请拍照及时联系客服。 2 ： 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态 ， 观察拍照后不用打开培养瓶盖 ， 放入培养箱静止2- 3小时稳定细胞状态。 3 ： 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。 4 ： 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、STR 鉴定、支原体检测报告。 5 ： 若产品有异常或其他疑问 ， 可随时联系客服 6.收到后，培养条件(完培配置)需跟官网保持一致，如有变动销售另行告知 仅限于科学研究 ， 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

半贴细胞和贴壁不牢(悬浮)细胞

半贴细胞和贴壁不牢(悬浮)细胞接收后的处理

1. 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。

2. 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10x，20x)各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

半贴细胞和贴壁不牢(悬浮)细胞:T25瓶置于37℃培养箱中约2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在60%以下，客户需收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

备注: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。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1:2传代。

半贴细胞和贴壁不牢(悬浮)细胞的复苏、传代、冻存步骤

复苏细胞:从液氨灌中或-80冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热37℃℃

1. 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻;

2. 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀:

3. 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基接种于T25培养瓶中(或6cm 皿中)，培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度;

细胞传代:如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养，

细胞复苏:

1. 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中;

2. 贴壁细胞用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次，由于细胞贴壁不牢PBS润洗后细胞会脱落所以PBS也要回收到离心管中

3. 加 1-2mL 消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于 37℃培养箱中消化2-3min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化:3)将收集到的悬浮细胞、pbs清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞1000rpml离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1:2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。(即1个T25 传代接种至 2~3个T25 或者 2~3 个直径为6cm 的培养皿)。

细胞冻存:

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1x10^6~1x107个活细胞/ml;

2. 2.1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml东存液含1x10^6~1x107个活细胞/ml分配到-个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息:

3. 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氨罐中长期保存

悬浮细胞接收后的处理

1. 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37℃培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们

2. 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10x，20x)各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

3. 悬浮细胞:T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清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)。

备注: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。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1:2传代。

悬浮细胞的复苏、传代、冻存步骤

1. 悬浮细胞复苏:从液氮灌中或-80℃CC冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热37℃℃

2. 复苏细胞:从液氮灌中或-80℃冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃;1)将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻;

3. 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀;

4. 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基接种于 T25 培养瓶中(或6cm 皿中)，培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

悬浮细胞传代:如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。方法一:将细胞悬液收集到离心管中1000rpm，离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1:2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。方法二:半换液处理，竖着培养瓶在培养箱静置10-20min 左右，肉眼可见大部分细胞沉在底部;轻轻吸掉 3ml左右培养基，将剩余细胞悬起混匀;

5. 将细胞悬液按 1:2到 1:3 的比例分到新的含 5-6 m 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中，一般这样传代3次左右可以离心传代一次

悬浮细胞冻存:

1.收集瓶内所有细胞悬液吸至离心管，如悬浮细胞贴壁需要把贴壁的细胞吹下来一起收集离心，可使用血 球计数板计数，来决定

2. 细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1x10^6~1x107个活细胞/ml;2)1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml冻存液含1x10^6~1x107个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息;

3.按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

贴壁细胞

贴壁细胞接收后的处理

1. 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37℃培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们

2. 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10x，20x)各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

3. 贴壁细胞:细胞在379C培养箱中放置2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除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6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。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，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

备注: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。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1:2传代。

细胞复苏

贴壁细胞的复苏、传代、冻存步骤

1. 贴壁细胞复苏:从液氮灌中或-80℃CC冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃℃1)将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻;

2.加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。

3.弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8m!完全培养基接种于T25 培养瓶中(或6cm 皿中)，培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

4. 贴壁细胞传代:如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养

5.弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS 润洗细胞 1-2 次;

6.加 1-2mL 消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于 37°℃培养箱中消化2-3min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化;3)轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL完全培养基后吹匀;4)按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2到 1:3的比例分到新的含 6-8mL完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

7. (首次传代两个T25或者两个6cm的皿)

贴壁细胞冻存:

1.细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的 冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为1x10 6~1x107个活细胞/ml;

2.1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1m(冻存液含1x10^6~1x107个活细 胞/ml分配到-个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息;

3. 按冻存数量加入无血清冻存波后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氨罐中长期保存。