

(LLN)人喉癌淋巴结转移细胞

基本信息

细胞名称	(LLN)人喉癌淋巴结转移细胞
细胞品牌	酶联生物
细胞规格	1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶
细胞英文	LLN 细胞
细胞简介	与人喉癌细胞 LCC 为同一人来源，是淋巴结转移灶经原代培养获得的细胞系
种属来源	人
组织来源	喉
疾病特征	喉癌
支原体检测	阴性
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
生长条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃
传代方法	1：2 至 1：6，每周 2 次
培养基	RPMI 1640，90%；FBS，10%
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO，液氮储存

发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅限于科研实验使用, 不得用于其他用途

接受后处理

处理 1	收到细胞后, 请检查是否漏液, 如果漏液, 请拍照片发给我们
处理 2	请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37°C 培养约 2-3h
处理 3	弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基
处理 4	如果细胞密度达 80%-90% 请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司的完全培养基
处理 5	接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系

细胞操作

复苏细胞	将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。
细胞传代	如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养: 1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。 2. 加 1ml 消化液 (0.25% Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中, 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟, 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。 3. 按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。

	4.将细胞悬液按 1: 2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。
细胞冻存	待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:
	1.弃去培养基后, PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 1ml 含血清的培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。
	2.4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞, 根据细胞数量加入血清和 DMSO, 轻轻混匀, DMSO 终浓度为 10%, 细胞密度不低于 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。
	3.将冻存管置于程序降温盒中, 放入 -80 度冰箱, 2 个小时以后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。
注意事项	1.收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好, 培养液是否有漏液、浑浊等现象, 若有上述现象发生请及时和我们联系。
	2.仔细阅读细胞说明书, 了解细胞相关信息, 如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等, 确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题, 责任由客户自行承担。
	3.用 75%酒精擦拭细胞瓶表面, 显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落, 将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时,再取出观察。此时多数细胞均会贴壁, 若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力, 如果证实细胞活力正常, 请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养; 如果染色结果显示细胞无活力, 请拍下照片及时和我们联系, 信息确认后我们为您再免费寄送一次。

	4.静置细胞贴壁后, 请将细胞瓶内的培养基倒出, 留 6~8mL 维持细胞正常培养, 待细胞汇合度 80%左右时正常传代。
	5.请客户用相同条件的培养基用于细胞培养, 培养瓶内多余的培养基可收集备用, 细胞传代时可以一定比例和客户自备的培养基混合, 使细胞逐渐适应培养条件。

细胞备注

<u>1</u>	建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片, 记录状态, 便于本公司技术部沟通交流。
<u>2</u>	如果细胞在运输中出现问题, 可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时和我们联系, 告知细胞的具体情况, 以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
<u>3</u>	酶联生物客户在购买细胞过程中各种问题, 可以随时联系我们, 我们给予实验中的解答。

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

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。