

鸡肝癌细胞

LMH



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件
EC-LMH	鸡肝癌细胞	-80℃

细胞特性：

来源	鸡肝
形态	上皮细胞样，贴壁生长
含量	> 1×10 ⁶ 细胞数
规格	T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
用途	仅供科研使用

运输和保存：

干冰运输及复苏好存活细胞：

- 1.1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
- 2.T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

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 2-3h，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.请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）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。

贴壁细胞：细胞在 37℃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。

3.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。

一. 培养基及培养冻存条件准备

1.准备 WaymouthMB752/1 培养基；特级胎牛血清，10%；双抗 1%。

注意：

(1).细胞贴壁性差，该细胞生长需要用到 0.1%的明胶包被的培养瓶或使用 Corning 的 cellbind 细胞培养瓶,货号是 3289,补液的时候不要冲刷到细胞层，2-3 天换液，90%以上汇合度传代。

(2).除去培养基，用冷的 0.25%胰蛋白酶、0.03%EDTA 溶液冲洗两次。让烧瓶在室温下静置(或在 37°C下孵育)直至细胞分离。

(3).加入新鲜培养基，吸出，然后分配到新的培养瓶中。烧瓶必须涂有 0.1%明胶。要准备容器，请用明胶溶液淹没它们，冷藏 5 到 10 分钟，然后取出液体。以这种方式制备的容器可以立即使用。

2.培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37°C，培养箱湿度为 70%-80%。

3.冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。

二.细胞处理：

1.冻存细胞的复苏：

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，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 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37°C培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2.细胞传代：

如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

(1).弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

(2).加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53mMEDTA 于培养瓶中（T25 瓶 1-2mL，T75 瓶 2-3mL），置于 37°C培养箱中消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

(3).轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。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，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3.细胞冻存：

收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例；

(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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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).将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项：

- 1.所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2.建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。
- 3.本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 4.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5.实验结果受多种因素影响，相关处理仅限于产品本身，不涉及其他赔偿。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话：13564444959

官网：www.followme-shop.com

地址：北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服