

CAL33 (人舌磷癌细胞)

细胞基本信息

产品货号	AW-CCH558
产品规格	$>5 \times 10^5$ cells
包装规格	T25 培养瓶/1ml 冻存管
细胞形态	上皮细胞样，贴壁生长
来源	人，舌癌
培养条件	MEM (含NEAA) 培养基+10%优质胎牛血清+1%双抗 空气，95%；二氧化碳，5% 37°C
细胞描述	CAL33细胞建立于1983年（治疗前）一名患有中度分化鳞状细胞舌癌的69岁男性的手术切除的舌头损伤碎片；被描述为对裸鼠具有致瘤性；在CCLE中列出（参考编号18232），具有基因组和蛋白质分析。

仅供科研使用，不可用于临床诊断和治疗。

售后服务告知书

1、收到细胞及处理

1) **收到细胞后**，活细胞首先观察培养瓶是否完好，培养液是否漏液，培养基是否浑浊；冻存细胞是否干冰已挥发完，冻存管盖是否脱落，破碎，若有这类情况，请务必拍照记录，并于收货24h内与我们联系。

2) 细胞处理:

常温的细胞: 如果是T-25培养瓶活细胞，收到后请用75%的酒精对培养瓶表面进行消毒处理，然后转入培养箱中静置2~3h后再进行后续处理（细胞未长满，就去除原瓶培养基，加入适量新鲜培养基继续培养；若已长满，需进行传代处理（参考下文））

备注一: 运输用的培养基不宜再次用来培养细胞，请按照说明书新配置完全培养基来培养细胞。（若您没有来得及准备合适的培养基，可以取少量（5~10ml）原瓶培养基，补充适量的血清培养，24h内更换新鲜完全培养基）

备注二: 个别细胞由于贴壁松散，运输过程可能会导致脱落；或者冬天温度低细胞出现收缩漂浮，属于不可避免因素，请您先静置观察2-4h时，待细胞稳定后会贴回，若未贴回的细胞，请您离心收集悬浮细胞沉淀再重新加入到新的培养瓶/皿中，正确处理后可以恢复正常生长。

冻存细胞: 干冰运输的冻存细胞，收到后请立即安排复苏或者转入液氮存储或者短暂（24h）放置-80度冰箱保存（长时间-80度保存可能会影响细胞活力）。

2、细胞出现问题，可以免费重发的情况有哪些？

1) 细胞运输过程中的各种问题，比如培养基漏液，培养瓶破碎等，请于收货当天拍照记录，提供照片，培养3天出现污染，免费重发；

- 2) 细胞污染问题, 请于**收货当天**及时拍照记录, 提供清晰的照片(培养瓶外观照+显微镜下微生物污染照片), 并联系我们, 核实后免费重发;
- 3) 细胞活力问题, 收到细胞后状态和发货时(参考发货细胞图片)差异大, 存活率低, 请收货当天拍照记录, 根据情况培养1周, 状态没有好转的, 免费重发
- 4) 干冰冻存发货的细胞, 收到后立即复苏或者-80度冰箱保存不超过24h复苏的, 复苏后24h, 绝大多数细胞未存活, 并反馈给我们的, 免费重发复苏好的细胞;
- 5) 其他, **1周内**出现问题, 并提供收到细胞前3天细胞拍照记录, 期间与销售人员进行沟通反馈情况的, 由技术人员判断为我方责任的, 免费重发; 技术人员判断为双方共同承担责任的, 由双方进行协商处理或者按照合同价的50%收费重发;
- 6) **1周以后**, 细胞出现问题或者污染, 可以申请合同价50%再发一瓶。

3、细胞出现问题, 不予重发的情况有哪些?

- 1) 收到细胞状态良好, 用户操作不当导致细胞污染、状态不佳, 细胞冻存后复苏不活, 不与免费重发; **1周内**可以申请合同价50%再发一瓶;
- 2) 客户未按照推荐培养基培养, 导致细胞状态不好, 不重发;
- 3) 细胞状态不好, 收到细胞**3天内**, 未告知, 不与免费重发;
- 4) 非细胞质量问题, 用户收货1个月内出现细胞状态不佳或者死亡, 可以申请合同价50%再发一瓶。
- 5) 视具体情况而定。

发表[中文论文]请标注: CAL33 (AW-CCH558) 由艾碧维生物科技有限公司提供;
发表[英文论文]请标注: CAL33 (AW-CCH558) were provided by *Abiowell Biotechnology Co., Ltd.*

细胞复苏、传代及冻存流程参考

1、细胞复苏

- 1) 配制完全培养基：基础培养基+胎牛血清+双抗（特殊培养基特殊配置）；
- 2) 细胞复苏：取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中，37°C 水浴锅预热，从液氮管（或者 -80 度冰箱）中快速取出冻存的细胞，放入 37°C 水浴锅中，摇晃使快速化冻（1min 左右），然后将化冻的细胞和预热的培养基，移入超净工作台中，化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 吸弃上清，得到细胞沉淀，用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞，加入到 T25 培养瓶中，做好标记，放入 37°C，5%CO₂ 饱和适度培养箱中培养（培养皿复苏效果更好）；
- 4) 24h 后，观察细胞贴壁情况（未贴壁的即为死细胞--针对贴壁细胞），吸弃旧培养基，加入新鲜的预热（室温或 37°C）的完全培养基，继续培养。

2、细胞传代（悬浮细胞不用胰酶消化的过程，直接进行离心收集细胞沉淀或者半量换液）

- 1) 待细胞生长到 80% -90% 汇合度时，吸弃旧的培养基，加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次，以去除残余的培养基及血清（血清含有胰酶的抑制因子），然后加入 1ml 0.25% 胰酶，消化（10s~2min 不等，不同细胞消化时间不同，以细胞收缩变圆为准，第一次消化，建议镜下实时观察消化，以确定您实验室对该细胞消化的最优条件，避免消化过度）；
- 2) 加入 1ml 完全培养基（含 FBS）终止消化，轻轻拍打，使细胞脱落下来成单个细胞悬液，收集细胞于 15ml 无菌离心管中，1000rpm，离心 5min；
- 3) 收集细胞沉淀，完全培养基重悬，一分为二（可根据细胞生长速度调整比例），分别加入到 2 个新的培养瓶中，做好标记，放入培养箱中培养。

3、细胞冻存

- 1) 按照细胞传代方法，在超净工作台中消化收集细胞沉淀，取少量细胞用于计数；
- 2) 用预冷的 1ml 冻存液（90% 完全培养基+10% DMSO）或者无血清细胞冻存液重悬细胞，加入到 1.2ml 冻存管中，密度为 1×10^6 个/ml。
- 3) 放入程序冻存盒，-80°C 过夜后，转入液氮长期保存。

细胞复苏、传代及冻存流程参考

3、细胞复苏

5) 配制完全培养基: 基础培养基+胎牛血清+双抗 (特殊培养基特殊配置);

6) 细胞复苏: 取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中, 37°C 水浴锅预热, 从液氮管 (或者 -80 度冰箱) 中快速取出冻存的细胞, 放入 37°C 水浴锅中, 摇晃使快速化冻 (1min 左右), 然后将化冻的细胞和预热的培养基, 移入超净工作台中, 化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min;

7) 吸弃上清, 得到细胞沉淀, 用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞, 加入到 T25 培养瓶中, 做好标记, 放入 37°C, 5%CO₂ 饱和适度培养箱中培养 (培养皿复苏效果更好);

8) 24h 后, 观察细胞贴壁情况 (未贴壁的即为死细胞--针对贴壁细胞), 吸弃旧培养基, 加入新鲜的预热 (室温或 37°C) 的完全培养基, 继续培养。

4、细胞传代

4) 待细胞生长到 80% -90% 汇合度时, 吸弃旧的培养基, 加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次, 以去除残余的培养基及血清 (血清含有胰酶的抑制因子), 然后加入 1ml 0.25% 胰酶, 37°C 培养箱中消化 (1~2min 左右, 不同细胞消化时间不同), 取出细胞, 镜下观察细胞至细胞皱缩变圆;

5) 加入 1ml 完全培养基 (含 FBS) 终止消化, 轻轻拍打, 使细胞脱落下来成单个细胞悬液, 收集细胞于 15ml 无菌离心管中, 1000rpm, 离心 5min;

6) 收集细胞沉淀, 完全培养基重悬, 一分为二 (可根据细胞生长速度调整比例), 分别加入到 2 个新的培养瓶中, 做好标记, 放入培养箱中培养。

3、细胞冻存

4) 按照细胞传代方法, 在超净工作台中消化收集细胞沉淀, 取少量细胞用于计数;

5) 用预冷的 1ml 冻存液 (90% 完全培养基+10% DMSO) 或者无血清细胞冻存液重悬细胞, 加入到 1.2ml 冻存管中, 密度为 1*10⁶ 个/ml。

6) 放入程序冻存盒, -80°C 过夜后, 转入液氮长期保存。