

人早幼粒白血病细胞 (HL-60)

细胞介绍:

HL-60 是一株早幼粒细胞。外周血白细胞来自一位患有急性粒-单核细胞白血病的 36 岁白人女性。HL-60 自发分化，丁酸盐、次黄嘌呤、佛波醇肉豆蔻酸 (PMA,TPA)、DMSO(1% to 1.5%)、放线菌素 D 和视黄酸可以促进分化。细胞表现出吞噬活性，并对趋化刺激有响应。致癌基因 myc 表达阳性。

细胞特性

- 1) 来源：外周血；早幼粒细胞；急性粒-单核细胞白血病
- 2) 形态：原粒细胞 悬浮生长
- 3) 含量： $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格：15ml 离心管
- 5) 用途：仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理:

HL-60 该细胞为悬浮细胞，我们发货是用的 T12.5 装的，方便老师操作。传代时使用【半换液法】对细胞状态有利，因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

您在收到细胞后，不需要通过离心的方式收集细胞，可以将 T12.5 上下混匀数次，后移入 1 个 T25 培养瓶中继续培养即可。

静置后可以观察下细胞形态，拍照。

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 IMDM 培养基；特级胎牛血清，10-20%；双抗，1%。
- 2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液：无血清细胞冻存液。

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℃ 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℃ 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。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法:

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态，一般情况下细胞密度维持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。传代时可以加入等体积的新鲜培养基混合均匀，然后将培养液一分为二后分到 2 个新的 T25 培养瓶中继续培养即可。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:

QuiCell 葵赛生物

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。用无血清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。