# Qui€eLL契赛生物

人肥大细胞 (HMC-1)

#### 细胞描述

HMC-1 细胞系是从一名肥大细胞白血病患者中建立的。 HMC-1 细胞广泛用于人类肥大细胞功能的研究,因为它们表现出组织肥大细胞的许多关键特征,例如组胺,类胰蛋白酶,肝素的表达和相似的细胞表面抗原谱。受体酪氨酸激酶 KIT 表达于肥大细胞上,对肥大细胞的增殖、功能和存活具有重要作用。 KIT 中的激活突变与肥大细胞生长失调有关,并与肥大细胞瘤和全身性肥大细胞增多症有关。 在 HMC-1 细胞系中已经报道了 KIT 中的两个激活点突变。 两种突变都将受体转化为组成型酪氨酸磷酸化和活性状态,从而导致生长因子非依赖性增殖。

## 细胞特性

- 1) 来源: 癌细胞系; 肥大细胞白血病
- 2) 形态: 淋巴细胞样, 悬浮生长
- 3) 含量: >5x10^5 细胞数
- 4) 规格: 15ml 离心管
- 5) 用途: 仅供科研使用。

### 悬浮细胞接收后的处理:

HMC-1 该细胞为悬浮细胞,我们发货是用的一个离心管装的,不是 T25 瓶装, 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。

<u>您在收到细胞后,不需要通过离心的方式收集细胞,可以将离心管上下混匀数</u>次,后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 2 管离心管分到 4 个 T25 瓶中】

## 静置后可以观察下细胞形态,拍照。

#### 细胞培养步骤

- 一. 培养基及培养冻存条件准备:
- 1) 准备 IMDM 基础培养基 89% , 特级胎牛血清 10%, P/S 青霉素-链霉素 1% 注意:
- 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

上海葵赛生物科技有限公司

中国(上海)自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891

## Qui€eLL葵赛生物

状态,一般情况下细胞密度维持在 1×10<sup>5</sup>~1×10<sup>6</sup> 个/mL(不同细胞对密度要求不同,)可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以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,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 1×10°~1×10° 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 1×10<sup>6~</sup>1×10<sup>7</sup>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,并请注意防护,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。