人肥大细胞系
(LAD2)

细胞介绍

LAD2 人类肥大细胞系源自一名患有肥大细胞肉瘤/白血病的患者的骨髓抽吸物。这些细胞表现出人类肥大细胞的超微结构特征，并表达 FcεRI 以及标志物 CD4、9、13、14、22、31、32、45、64、71、103、117、132、CXCR4 (CD184) 和 CCR5 (CD195)。此外，它们含有细胞质内的组胺、类胰蛋白酶和糜蛋白酶。 值得注意的是，LAD2 细胞在 c-kit 基因的密码子 816 处不携带激活突变。类似于 LAD1，LAD2 细胞在 FcεRI 或 FcγRI 聚集时释放 β-己糖胺酶。LAD2 肥大细胞系的可用性为研究人类肥大细胞的生物学提供了独特的机会。随着时间的推移，它已成为过敏和肥大细胞增多症研究中最广泛使用和认可的黄金标准肥大细胞系，也是药物开发中的关键工具。

细胞特性

1） 来源：男性，44 岁，肥大细胞增多症
2） 形态：悬浮；圆形，有颗粒；在高密度下有一些大聚集体
3） 含量：>5x10^5 细胞数
4）用途：仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理：

该细胞为悬浮细胞，我们发货是用的 T12.5 瓶装的，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 瓶上下混匀数次，后移入 1-2 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 **LAD2 细胞专用培养体系。**
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：

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 1×10^5~1×10^6 个/mL（不同细胞对密度要求

不同，）可以维持细胞的正常生长。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**：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

1，细胞冻存时，取上清，可使用血球计数板计数。

2，3-5min ，1000rpm 离心去掉上清。用冻存液重悬细胞，按照每 1ml 冻存液含 1X10^6~1X10^7 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中，注意冻存管做好标识。

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。