

人肾皮质近曲小管上皮细胞 (HK-2)

细胞介绍

该细胞属源于正常肾的近曲小管细胞，通过导入 HPV-16 E6/E7 基因而获得永生 化。将含有 HPV-16 E6/E7 基因的重组的逆转录病毒载体 pLXSN 16 E6/E7 转染外生 包装细胞 Psi-2，Psi-2细胞产生的病毒再去感染兼嗜性包装细胞系 PA317，最后 将 PA317产生的病毒颗粒导入正常的肾皮质近曲小管细胞。尽管 pLXSN 16 E6/E7 中含有新霉素抗性，但未用 G418筛选转导克隆。Southern 和 FISH 分析显示 HK-2 细胞来源于单克隆。PCR 检测证实 HK-2细胞基因组中含有 E6/E7 基因。

细胞特性

- 来源：正常肾
- 形态：上皮细胞样
- 含量： $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 规格：T25瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1)干冰运输，收到后 立即转入液氮冻存或直接复苏；(2)存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细 胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途：仅供科研使用。

细胞培养步骤

培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备角化培养基 (Defined K-SFM, 货号：10785-012);角化因子 (500X);添 力口 5ng/mL EGF;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%。
冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

细胞处理：

1. 复苏细胞：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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补 加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜 (或将 细胞悬液加入 100 cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜)。第二天换液并检 查细胞密度。

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，传代可参考以下方法：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次。

力口 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2分钟，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少量培养基终止消化。按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

下面 T25瓶为例；

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。

1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。

本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。

将冻存管置于程序降温盒中，放入-80度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项：

收到细胞后，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。

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。