



## 人慢性粒细胞白血病细胞(KCL-22)

### 细胞特性

- 1) 来源: 粒性白血病
- 2) 形态: 圆形, 悬浮生长
- 3) 含量:  $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存:** 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后, 可在 1000RPM, 常温条件下, 离心 5min 后, 于洁净操作台弃去上清, 加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养, 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

#### 1) 培养基及培养冻存条件准备:

1. 准备 RPIVM-1640 培养基(RPIVM-1640:GIBCO,货号 31800022,添加 NaHC031.5g 八, D-葡萄糖 2.5g 八, 丙酮酸钠 0.11g 八), 90%;优质胎牛血清, 10%。
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: 90%完全培养基, 10%DMSO,现用现配。液氮储存。

#### 2) 细胞处理:

**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 10cm 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 2m | 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。

对于悬浮细胞, 传代可参考以下方法:



方法一：收集细胞，1000RPM，常温条件下离心 5 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。

方法二：可选择半数换液方式，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 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。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。悬浮细胞冻存时，应将细胞收集，1000RPM，常温条件下离心 5 分钟，少量保存上清液（防止细胞吸走），加入部分新鲜培养基，吹打均匀后，加入到冻存管中，在冻存管中加入 10%DMSO 摇匀后进行冻存。

#### 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。