

**K562/ADR K562 耐阿霉素细胞株**

K562 Resistant Adriamycin Cell Line

**细胞介绍**

K562/ADR 为由 K562 细胞构建的耐 ADR 药物细胞株。

**细胞特性**

- 1) 来源：人慢性髓系白血病细胞耐药筛选
- 2) 形态：淋巴母细胞样；圆形，悬浮生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$  细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

**运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞**

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，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。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

**细胞接收后的处理**

1、收到细胞后，若发现培养瓶破损、漏液及细胞有污染；或冻存管有破损，融化、漏液等，请立即拍照并联系我们。照片包括细胞培养瓶/冻存管外观，显微镜下细胞照片（100 倍，200 倍各 2 张）；

2、复苏细胞的充液培养基为不含药物的维持培养基，血清浓度较低，收到细胞后请及时更换为完全培养基；

**3、建议收到细胞后，首先进行扩增（至少 3 代），并冻存部分细胞以备用。**

4、初次培养，当细胞密度达  $8 \times 10^5$  个/mL 时，可加入 500ng/mL ADR 的完全培养基培养，至细胞细胞密度达  $1 \times 10^6$  个/mL 后传代。细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 1ug/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞密度达  $8 \times 10^5$  个/mL，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。

5、细胞冻存过程中，不可添加药物。

**细胞培养试剂的配制****1) ADR 药物的配制及保存**

建议将 ADR 药物配制成 1mg/mL 的母液，即使用 10mL PBS 溶液溶解 10mg ADR 药物，使其完全溶解后，使用 0.22um 滤器过滤除菌。

**注意：可根据用量配置药物，并将药物分装保存，避免反复冻融导致药物失效。溶解后的 ADR，4℃ 保存 1 周，-20℃ 保存 1 个月，-80℃ 保存 6 个月。**

**2) 冻存液的配制**

90%优质胎牛血清+10%DMSO，现用现配。（冻存液中不含药物）

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



### 3) 完全培养基的配制

成分	体积/浓度
优质胎牛血清	10%
双抗	1%
1 $\mu$ g/mL ADR	0.1%母液 (1mg/mL)
RPMI-1640 培养基	补充至所需体积

#### 细胞培养条件

气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，培养箱湿度为 70%~80%。

#### 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，1000rpm/min 离心 3~5min，弃去上清液。加入 1mL 完全培养基重悬细胞后，均匀铺于含 6~8mL 完全培养基的培养瓶（或皿）中，置于 37℃ 恒温细胞培养箱中过夜培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

注意：①细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞密度达约  $8 \times 10^5$  个/mL 时，方可添加 500ng/mL ADR 药物；若细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 ADR 的浓度（首次降低一半药物浓度），或使用不含 ADR 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 浓度。

②建议复苏细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩，避免冻存管处于温差较大情况下发生爆炸，造成人员伤害。

##### 2) 细胞传代（建议以同等底面积的培养瓶/皿按照 1:2 比例传代）

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，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。

注意：细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 1 $\mu$ g/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞密度约  $8 \times 10^5$  个/mL，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。

##### 3) 细胞冻存

①细胞冻存时，收集细胞悬液到离心管中，1000rpm，离心 5min，弃去上清。

②细胞计数后，加入配制好的细胞冻存液，重悬细胞，按照  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个细胞/mL 分配到一个冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。



**注意：细胞冻存过程中，不可添加药物。**

③将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80℃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。

#### 使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

