

KCL-22 人慢性粒细胞白血病细胞
Human Chronic Myeloid Leukemia Cells ,KCL22

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：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。

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。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基(RPMI-1640，添加 NaHCO_3 1.5g/L, D-葡萄糖 2.5g/L, 丙酮酸钠 0.11g/L)，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。

二. 细胞处理：

1) **复苏细胞**：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 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。

2) **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：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 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。
3. 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。
4. 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。

3) 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:

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。

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。

