

细胞产品手册

OriCell® K-562

人慢性髓系白血病细胞系

产品货号：H3-0301



产品介绍

人慢性髓系白血病细胞系（K-562）由 Lozzio 从一位临终的 53 岁女性慢性骨髓性白血病患者的胸水中建立。K-562 细胞被归入高度未分化的粒性白细胞类，Erson 等对其表面膜性质的研究表明，K-562 细胞是一株人类红白血病细胞。K-562 母细胞是多能性造血恶性细胞，它能自发分化成可识别的红血球祖细胞、粒性白细胞、单核细胞等。K-562 细胞是 EBNA 阴性的。

K-562 细胞在自然杀伤分析中广泛作为高敏感的体外受体，See Pross 等将 K-562 细胞用于 NK 细胞的体外详细检测，包括 NK 细胞活性的数学量化。

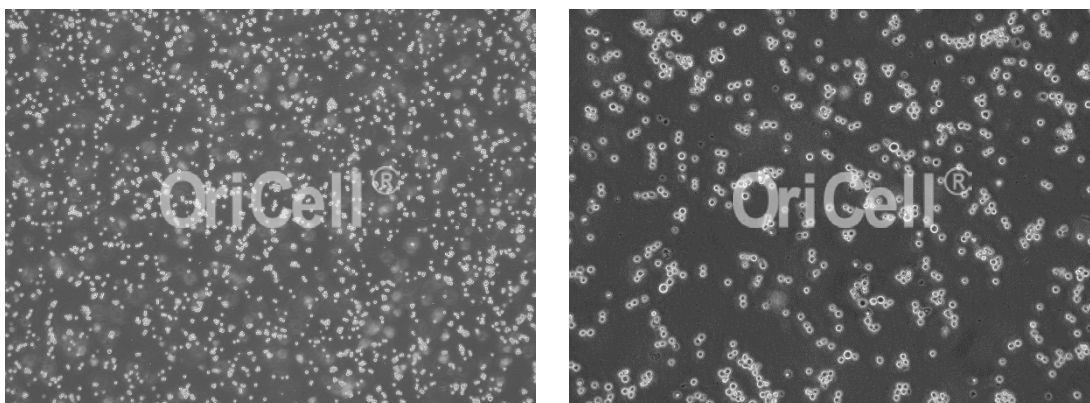
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	人慢性髓系白血病细胞系
简称	K-562
货号	H3-0301
规格	1×10^6 个/管 或 1×10^6 个/瓶
组织来源	胸水
细胞特性	淋巴细胞样；悬浮生长
培养条件	95% 空气；5% CO ₂ ；37°C
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	15~25h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196°C）

注意：本产品在生产过程中严格控制无菌。在后续培养过程中，请根据实际情况决定是否在培养基中添加抗生素。

OriCell® K-562 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>90%。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

FBS: Fetal Bovine Serum 胎牛血清

NBCS: Newborn calf serum 新生牛血清

BCS: Bovine calf serum 小牛血清

HS: Horse Serum 马血清

Glu: Glutamine 谷氨酰胺

ITS: Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物

NEAA: Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸

SP: Sodium Pyruvate 丙酮酸钠

β-mer: β-mercaptoethanol β-巯基乙醇

Dex: Dexamethasone 地塞米松

P/S: Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® K-562 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 $140\times g$ 离心 5 min。

注意：请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。

9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中

培养基总量不少于 5 mL。

11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。
13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞密度至 95%以上，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® K-562 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管
- 两个无菌的 50 mL 离心管

注意：收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；检查培养基是否浑浊；瓶身有无裂痕；瓶口有无培养基渗漏。如有任何异常情况，请及时与我们联系。

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查是否出现大量死细胞。
4. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，将细胞悬液均分，转移到两个 50 mL 离心管内。
5. 细胞悬液以 $140\times g$ 离心 5 min。

注意：请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。

6. 吸取至少 2 份 1 mL 离心上清至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

注意：留样的细胞培养基请放置 4°C 冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 弃去多余的离心上清，加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
8. 将细胞按 $1.0\sim 2.0\times 10^5$ cells/mL 的密度接种到培养器皿中，加入足量的完全培养基。
9. 摇匀细胞，将放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

10. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞密度至 95%以上，即需传代。

细胞的换液

所需材料

- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

注意: 为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。换液时只取当天所需培养基量进行预热。

1. 镜下观察细胞，如果出现较多的死细胞或分泌物，需及时换液。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管中。
3. 降低离心力为 $140\times g$ ，将细胞悬液离心 4 min 后，去除上清液。
4. 向细胞沉淀物加入 1 mL 完全培养基，轻轻重悬细胞。
5. 将细胞悬液移入一个新的培养器皿中。
6. 加足量的培养液，在 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 、饱和湿度的培养箱中培养。
7. 之后，视培养液情况和细胞的生长情况，予以换液或传代。一般隔天换液。

传代时机判断

一般情况下，人慢性髓系白血病细胞 K-562在培养2-3天后进行传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

1. 将完全培养基预热至 37°C。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
3. 收集的所有细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
4. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
5. 将细胞按 $(2\sim3) \times 10^4$ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意：我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® K-562 细胞传代比例为 1:3~1:5, 72h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

6. 摇匀细胞, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。
7. 传代次日, 观察细胞状态。给传代的细胞换用新鲜的完全培养基 (已预热到 37°C)。
8. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞密度至 95% 以上, 即需传代或冻存。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell® 通用血清型程序冻存液（货号：CYRO-10001）

操作步骤

1. 若选用 OriCell®通用血清型程序冻存液，请在操作前将程序降温盒放入 4℃冰箱内预冷。
2. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
3. 细胞消化请参考 OriCell® K-562 细胞的传代操作步骤 1~5。
4. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
5. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意：在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4℃冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。

6. 若选用 OriCell®通用血清型程序冻存液，将冻存管放入预冷的程序降温盒中，再将程序降温盒放入-80℃冰箱中。若选用 OriCell®通用无蛋白非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入-80℃冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是开始冻存的 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。

7. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在-80℃冰箱中。我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。