



细胞产品手册

OriCell® KG-1 人急性髓性白血病细胞系

产品货号：H3-4301

产品介绍

人急性髓性白血病细胞系 (KG-1) 由 H.P.Koeffler 和 D.W.Golde 于一名 59 岁白人男性起初患有红白血病，后演变为急性粒细胞性白血病的骨髓中分离建立，该细胞处于髓系分化的较早阶段，类似于髓系祖细胞，表达 CD34 和 CD117 等早期标志物，在佛波醇酯存在下可分化为巨噬细胞。

人急性髓性白血病细胞系 (KG-1) 常被用作白血病起始细胞或白血病干细胞的体外模型，主要用于研究 LSC 的自我更新、耐药和休眠机制以及评估 CAR-T、CAR-NK 细胞疗法对髓系肿瘤的效果等方面。

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。

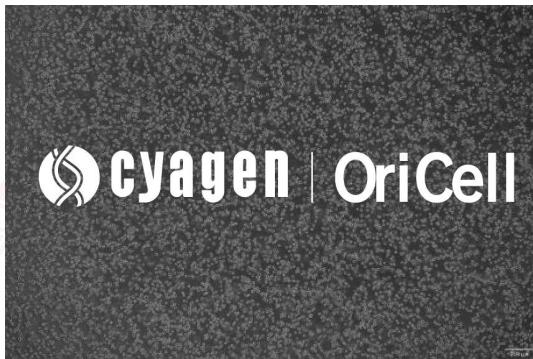
使用本细胞发表的文献需注明：(OriCell, Cat. No. H3-4301) from Cyagen.

产品信息

| | |
|--------|--|
| 产品名称 | 人急性髓性白血病细胞系 |
| 简称 | KG-1 |
| 别称 | KG-1 |
| 货号 | H3-4301 |
| 规格 | 1×10 ⁶ 个/管或 1×10 ⁶ 个/瓶 |
| 组织来源 | 人骨髓 |
| 细胞特性 | 悬浮生长；圆形 |
| 培养条件 | 95% 空气；5% CO ₂ ；37°C |
| 培养基 | IMDM+20% FBS |
| 倍增时间 | 24~48 h |
| 生物安全等级 | 1 |
| 保存条件 | 液氮 (-196°C) |
| 注意事项 | — |

注意：本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

OriCell® KG-1 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。
- 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。本产品需使用适合悬浮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：

| 简写 | 名称 | 货号 |
|-------|--|-------------|
| FBS | Fetal Bovine Serum 胎牛血清 | 参考官网信息 |
| BCS | Bovine Calf Serum 小牛血清 | SBCST-01001 |
| Glu | Glutamine 谷氨酰胺 | SGLU-10201 |
| SP | Sodium Pyruvate 丙酮酸钠 | SCSP-10301 |
| Dex | Dexamethasone 地塞米松 | SDEX-10401 |
| NBCS | Newborn Calf Serum 新生牛血清 | NCSST-01001 |
| HS | Horse Serum 马血清 | SCHST-01001 |
| NEAA | Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸 | NEAA-10201 |
| β-mer | β-mercaptoethanol β-巯基乙醇 | BMER-10301 |
| P/S | Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素 (双抗) | ATPS-10001 |
| ITS | Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物 | ITSS-10201 |

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® KG-1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基 (如 OriCell® KG-1 细胞系完培培养基)

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

操作步骤

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C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×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. 摆匀细胞，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，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® KG-1 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

注意: 1) 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;
2) 检查培养基是否浑浊;
3) 瓶身有无裂痕;
4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况, 请及时与业务经理联系。

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×g 离心 5 min。

注意: 请以公式 $a=\omega^2 r$ (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 $1.0\sim2.0\times10^5$ cells/mL 的密度接种到培养器皿中, 加入足量的完全培养基。
9. 摆匀细胞, 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, 直到细胞生长至合适密度, 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，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
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% 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，人急性髓性白血病细胞KG-1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 $(2\sim3)\times10^4$ 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® KG-1 细胞传代比例为 1:3~1:5, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

5. 摆匀细胞, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。
6. 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)。
7. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞生长至合适密度, 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[®] 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞收集请参考 OriCell[®] KG-1 细胞的传代操作步骤 1~3。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 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°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell[®] 非程序冻存液, 可将冻存管直接分散放入 -80°C 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。

6. 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°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（苏州）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（苏州）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。