Kasumi-1-GFP+LUC 人急性髓原白血病细胞-绿色+荧光素酶标记

货号： LG0062

Ⅰ 产品说明

细胞名称	Kasumi-1-GFP+LUC 人急性髓原白血病细胞-绿色+荧光素酶标记
英文名称	Kasumi-1-GFP+LUC
细胞形态	成髓细胞
生长特性	悬浮生长
培养方案	培养体系：PMI-1640（品牌：中乔新舟货号：ZQ-200）+10%胎牛血清（中乔新舟货号：ZQ0500）+1%P/S（中乔新舟货号：CSP006）+1% Sodium Pyruvate 100 mM Solution（中乔新舟货号：CSP003） 1%L-alanyl-L-glutamine（中乔新舟货号：CSP004） 推荐完全培养基，中乔新舟货号：ZM0426 培养环境：95%空气+5%二氧化碳，温度：37℃
消化时间	胰蛋白酶-EDTA 消化液（0.25%）在 37℃消化。 注：不同品牌胰酶不同细胞密度消化时间略有区别，实际操作中可从 30 秒或更短时间起始，逐步延长消化时间，以大部分细胞变圆脱落为准。
终止操作	推荐消化终止液(中乔新舟货号：CSP138)/或自配含 10%FBS 其它培养基 注：若培养基为无血清或低血清配方，不可用于终止消化。
冻存密度	贴壁细胞：每毫升 1-3x10^6 冻存一管（1mL/管）
冻存条件	推荐冻存液（中乔新舟货号：CSP042 无血清细胞冻存液）
质量检测	细菌、真菌、支原体检测均为阴性；STR 鉴定正确
传代比例	1：2-1：4
换液频率	2-3 次/周
产品规格	干冰运输，5x10^5cells/冻存管*2； 常温运输，5x10^5cells/T25 培养瓶*1
储存温度	活细胞：37℃； 冻存管：-196℃

参考资料

细胞背景描述

- 该细胞系是从一名急性髓系白血病(AML)患者的外周血中建立的。这是一个 8 号 21 号染色体易位的白血病细胞系。这种易位将 AML1 与 ETO(或 MTG8)基因并列，产生融合基因 AML1-ETO(也称为 AML1-mtg 或 RUNX1-CBF2T1)。因此，细胞产生嵌合的 AML1-ETO 蛋白。该蛋白下调 CEBPA mRNA、蛋白和 DNA 结合活性，这对粒细胞的分化至关重要。在增殖实验中，培养的细胞对白细胞介素-3 (IL-3)、白细胞介素-6、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞顶体噬菌体 CSF (GM-CSF)有反应，但对 IL-1 和 IL-5 无反应。该细胞复苏后需要两周左右恢复正常生长。 Kasumi-1 细胞具有髓细胞和巨噬细胞谱系的特征，使其在髓细胞分化的研究中特别有用。这些细胞在与 TPA (phorbol 12-肉豆蔻酸 13-乙酸酯)一起培养时可以被诱导分化为巨噬细胞样细胞，为探索髓系谱系承诺和分化的途径提供了一个强大的系统。这种分化能力增强了 Kasumi-1 细胞在 AML 生物学和更广泛的髓细胞发育过程研究中的效用。
- 人急性髓母白血病细胞，该细胞复苏后需要两周左右恢复正常生长。
- **该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP，LUC 基因，puro 抗性。**

种属	人
性别/年龄	男/7 岁
组织来源	外周血
疾病	急性成髓细胞白血病
细胞类型	肿瘤细胞
倍增时间	55 hours (PubMed=25984343); ~35 hours (DSMZ=ACC-542)
STR 位点	D5S818:9,11;D13S317:11,13;D7S820:8,11; D16S539: 9,12; VWA: 14; THO1: 6,9:Amelogenin:X; TPoX:8,9; cSF1P0:10,12.
生物安全等级	BSL-1
供应限制	仅供科研使用

文献奖励

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：Kasumi-1-GFP+LUC 人急性髓原白血病细胞-绿色+荧光素酶标记(LG0062)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供；
- 发表[英文论文]请标注：Kasumi-1-GFP+LUC (LG0062)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则；
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****

Ⅰ 细胞培养操作方法

培养须知	**【注意事项】** **a) 该细胞复苏后成活率较低，会出现大量死细胞和死细胞碎片，培养两周后有所好转。建议每 1-2 周对细胞进行 1000rpm，离心 5 min，弃掉上清，加入新鲜完全培养液，可以去掉部分细胞碎片和颗粒。培养过程中会出现死细胞和细胞碎片，收到邮寄的活细胞的用户若发现培养物内有部分死细胞和细胞碎片，此为正常现象。** **b) 细胞培养过程中会有轻微聚团，轻轻吹打开即可。当细胞密度较大或者培养液变黄时，需要及时进行半换液或者完全换液。** **c) 该细胞对血清质量较为敏感，建议您使用优质血清进行培养。** **d) 请注意保持细胞密度在合适的范围（$3x10^5$～$3x10^6$/ml），不能过稀。**
传代步骤	1. 准备好适合细胞系生长的完全培养基。将培养基预热至室温（25 度），水浴或培养箱保持在 37°C。 2. 细胞从培养箱中取出，放显微镜台静止 3-5min 后观察细胞汇合度，当细胞密度达到 80%左右即可进行传代。或使用细胞计数仪对细胞密度进行计数。 3. 用移液管轻柔吹打培养瓶中的细胞，使细胞均匀分散。收集细胞悬液进行离心 1000rmp（125-300g）5-10 分钟，轻轻吸去上清液，弹松细胞沉淀。 4. 用适量完全培养基将细胞密度调整至每毫升 0.2-0.4x10^6。将细胞悬液转入培养瓶中，通常为 1:2 或 1:3 的比例。 5. 当细胞密度不高，培养基颜色无明显变化可不进行换液，细胞密度只有 50%-60%可补充培养基 2-3mL。T25 培养瓶培养基不超过 10mL。 6. 对于细胞抱团生长且不能吹散的细胞，细胞状态好，可直接添加完全培养基进行分瓶。细胞密度不高，液体黄的可以沉降法进行换液、再补液。培养液很黄时建议低速离心换液。 7. 培养期间活细胞密度不能超过每毫升 1.0x10^6。悬浮细胞培养过程中会有轻微部分细胞会贴壁，轻柔吹打即可脱落，若吹打不下来可丢弃。 8. 细胞碎片多或死细胞多可低速离心去除 800rmp3-5min。传代操作请按细胞培养操作指南进行。对细胞培养方面有任何问题者，请联系我司售后支持部门。
复苏步骤	1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移到细胞房，提前准备好完全培养基，离心管； 2. 冻管细胞在 37°C 水浴中迅速解冻（大约 1-2 分钟）。为了减少污染的可能性，保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻，立即将冻管移出水浴，75%的乙醇消毒冻管外壁； 3. 将内容物转移到含 3-6mL 完全培养基的离心管中，轻轻混匀，离心（125 g，3～5 分钟）1000-1200rmp 去除培养基，细胞沉淀用手指弹松，添加 3mL 完全培养基混匀细胞并进行计数，用适量完全培养基将细胞密度调整至 0.3-0.5x10^6，建议 T25 培养瓶添加 5-7mL 细胞悬液。转移至培养瓶中，于培养箱中静置培养。当密度达到 80%以上时传代。（备注：接种密度，可根据细胞的大小进行调整。）
冻存步骤	1. 细胞密度 80%以上，活细胞百分率达 95%以上时，将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存； 2. 细胞沉淀用适量 4°C 冻存液（货号：CSP042）重悬， 建议一瓶 T25 细胞冻存一管（1mL/管），直接将分装好的细胞冻存管置于-80℃超低温冰箱中过夜，若需液氮长期保存，需先置于-80℃至少一天后方可转至液氮罐中。 注：若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作，若是自配冻存液需梯度降温冻存(2-8℃，放置 40min；-20℃，放置 30min-60min；-80℃放置一天后转移至液氮保存)或使用程序降温盒降温后，再转移至液氮中保存。

到货操作指南

活细胞

1. 收到细胞，请拍 40X、100X、200X 各 2-3 张照片；
2. 用 75%酒精擦拭瓶身，封口膜可以不用撕去，满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作；悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置，贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置，在此期间，请查看说明书以确定细胞属性；
3. **贴壁细胞：**观察细胞密度约 80%则可正常传代处理（有的原代细胞不可传代，请仔细查阅细胞说明书并根据实际情况决定）；观察细胞密度若细胞密度不到 80%，建议更换新鲜完全培养基再培养 1 天后根据密度进行处理；
4. **悬浮细胞**：
   a) 静置稳定后，准备两个无菌、无酶、无热源 50mL 离心管备用；
   b) 使用移液枪缓慢吸取培养上清，保留瓶底约 4mL 培养基和大部分细胞。吸取的上清转移至离心管，1000rpm 离心 5min；
   c) 离心结束后，取 3mL 新鲜完全培养基重悬细胞沉淀，转移回原细胞瓶，此时瓶内总体积约 7mL；
   d) 到货细胞建议稳定培养 24h 后，再评估状态进行传代操作。
5. **半悬半贴细胞**：先收集上清悬浮细胞再消化贴壁细胞(部分细胞不能胰酶进行消化，请仔细查阅细胞说明书并根据实际情况决定)。

注：

- 原代/永生化细胞请提前准备好完培；细胞系产品若您没有备合适的培养基：可取出原瓶多余培养基(小部分细胞可能需要额外补足血清)，离心去除细胞碎片后 4℃冰箱保存，可作为应急使用；
- 建议在首次传代成功、细胞状态稳定后，立即冻存备份 2-3 支冻存管，以备后续实验使用，防止因意外丢失。首次传代按照等比例 1:2 进行；
- 到货发现有任何异常现象，污染，漏液，请及时拍照并反馈。

冻存管

1. 收到冻管，查看干冰量，冻管外观是否正常；
2. 若计划 7 天内复苏：可暂将细胞管存放于-80°C 冰箱；计划超过 7 天复苏或长期保存：务必将细胞管转移至液氮罐中长期存储；
3. 注：若出现冻管外观异常，请拍照并反馈。

贴壁细胞漂浮的处理方法

部分细胞由于贴壁松散，会出现运输后漂浮，冬天气温低时也会出现细胞收缩漂浮，属于不可避免因素，正确处理后均可以正常生长

1. 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞（1200rpm，3-5min）去除旧培养基；
2. 用 PBS 重悬细胞，将所有细胞收集到一个离心管中，再次离心（1200rpm，3-5min）去除 PBS；
3. 加入 1mL 左右含有 EDTA 的 0.25%胰酶重悬细胞，混匀即可，建议震动离心管混匀，避免吹打细胞，放入培养箱消化细胞，根据细胞特性决定消化时间（TM3、TM4、293 系列约 1~2 分钟）；
4. 注：部分细胞不能使用胰酶消化，请注意查看细胞说明书；单颗漂浮的细胞不需要胰酶处理。
5. 消化好后，用移液枪轻轻吹打细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入 3-5mL 含血清的培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm，3min）去除胰酶；
6. 加入 5mL 左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中；
7. 显微镜下观察细胞是否成均匀分散的单颗细胞，若有 3-5 个成团的小细胞团可不用重新消化，使之贴壁后待细胞生长稳定后再次传代消散细胞。