

LymGro® NK 细胞体外培养试剂盒

货号	品名	规格
CT011A	LymGro® NK 细胞体外培养试剂盒	Kit



源培·培源
BasalMedia

产品描述

本试剂盒是一款纯因子高效诱导 NK 细胞体外培养试剂盒，无饲养细胞，适用于新鲜和冻存的外周血 PBMC 和脐带血来源的 UCBMC 的 NK 细胞扩增，具有高扩增效率、高纯度、高活性、杀伤性强等特点，2L 体系培养 14-16 天扩增数量达 50 亿以上，培养 14 天后样本纯度可达 90~99%，操作简易，节省培养空间，收获细胞操作简单、时间短、所需耗材少，一次扩增所需健康人外周血量一般 20-30mL。

企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO 9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

试剂盒组成

品名	货号	规格	数量	储存条件
NK 细胞培养用包被液	CT01A1	5mL	1	-20℃
NK 细胞激活培养基 1	CT01B1	20mL	1	-20℃
NK 细胞激活培养基 2	CT01C1	100mL	1	-20℃
ICGF	M250GV	100μL	1	-20℃
NK 细胞无血清培养基	T521L0	1L	2	2~8℃
细胞稀释和洗涤溶液	B431K2	125mL	1	常温
分离管（内含 14mL 分离液）	R715J8	50mL	2	常温
1L 底透细胞培养瓶	LA-CF1000	1L	2	常温

自备实验材料

TC 处理 T75 细胞培养瓶、T150 细胞培养瓶或更大面积的培养瓶、移液管、离心管等

操作步骤

1. 包被：

- 1.1 在 T75 培养瓶中，加入 5mL NK 细胞培养用包被液（货号：CT01A1），水平摇晃混匀，溶液均匀铺满瓶底，在 37℃ 培养箱放置 2 小时或 4℃ 冷藏过夜。

- 1.2 使用前吸弃包被液，加入 10mL 细胞稀释和洗涤溶液（货号：B431K2）清洗培养瓶底部，重复 2 次，清洗后的培养瓶应立即使用，注意移液、清洗过程中移液管吸头部分勿刮擦瓶底。

2. 自体血浆制备：

- 2.1 将外周血或脐带血加入 50mL 尖底离心管中，每管体积不超过 30mL，离心设置为 700g 离心 15min，升 6 降 1。
- 2.2 吸取离心管上层淡黄色血浆转入新 50mL 离心管，56℃ 水浴灭活 30min，离心管内剩余部分用于单个核细胞的分离。
- 2.3 灭活后的血浆 900g 离心 10min，升 9 降 9，取上清 4℃ 保存备用或置于 -80℃ 长期保存。

3. 单个核细胞制备

- 3.1 取步骤 2.2 离心后获得的下层细胞，加细胞稀释和洗涤溶液 1:1 稀释混匀，按照 21-25mL/管将稀释血液缓慢加至已预装了淋巴细胞分离液的 50mL 分离管（货号：R715J8）中（界面分层清晰），室温 400g 离心 10min，升 6 降 1。
- 3.2 取单个核细胞层（白膜层）至新 50mL 离心管，加细胞稀释和洗涤溶液定容到 50mL，380g 离心 10min，升 6 降 5。
- 3.3 弃上清，细胞稀释和洗涤溶液重悬细胞并定容到 40mL，取样计数，剩余细胞悬液 380g 离心 10min，升 6 降 5。

4. 扩增培养基制备：

扩增培养基：在 1L/瓶的 NK 细胞无血清培养基（货号：T521L0）中加入 50μL 免疫细胞生长因子 ICGF（货号：M250GV），混匀备用，2~8℃ 保存，建议 1 个月内用完。

5. NK 细胞诱导激活、增殖：

Day-1：T75 培养瓶包被。

Day0：根据步骤 3.3 获得的细胞总数，加入 18mL NK 细胞激活培养基 1（货号：CT01B1）重悬单核细胞，调整密度为 $1.0 \sim 1.5 \times 10^6/\text{mL}$ ，加入到已包被的 T75 培养瓶中，补加 2mL 自体血浆，置于 37℃，5.0% CO₂ 培养箱培养，培养过程中尽量避免移动，观察过程轻拿轻放。

Day3：补加 38mL NK 细胞激活培养基 2（货号：CT01C1），补加自体血浆 2mL，总体积 64mL，培养过程中尽量避免移动，观察过程轻拿轻放。

Day5：转移入 T150 瓶，补加入 57mL 激活培养基 2，补加自体血浆 3 mL，总体积 120mL。

Day7：转移入 1L 底透瓶（货号：LA-CF1000）中，加入步骤 4 制备的扩增培养基 116mL，补加自体血浆 4mL，总体积 240mL。

Day8：等体积分瓶转入 1L 底透瓶中，同时每瓶加入 120mL 扩增培养基，将剩余的自体血浆等分成 2 份，加至 2 个底透瓶中，每瓶总体积 240mL。

Day10: 吸弃底透瓶上部培养基 100mL, 尽量不要吸到下层细胞, 每瓶加入 340mL 扩增培养基, 每瓶总体积约 480mL。

Day12: 吸弃底透瓶上部培养基 200mL, 尽量不要吸到下层细胞, 每瓶加入 480mL 扩增培养基, 每瓶总体积约 760mL, 取样质检

及流式检测。

Day14: 取样计数及收获 NK 细胞, 共约 1520mL 细胞, 取样质检及流式检测。。

相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T110KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基, 含 HSA	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T120KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基, 含 HSA, 不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T150L0	LymGro® OptiT 淋巴细胞无血清培养基	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
T520L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基, 不含酚红, 无动物源	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
T521L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基, 无动物源	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
R710JV	样本密度分离液, 1.077	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
S110JV	青霉素-链霉素 双抗溶液 100X	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S210JV	L-谷氨酰胺溶液, 100X *	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S240JV	L-丙氨酰-谷氨酰胺溶液, 100X *	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS), 不含钙、镁离子和酚红	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

* 100X 代表产品的浓度是工作浓度的 100 倍。