

NK-92 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	NK-92 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞
货号 NO.	ZQ 0434
描述 Description	NK-92 是从一位患有急进性非霍奇金淋巴瘤的 50 岁白人男性外周血单核细胞衍生来的一株白细胞介素-2 依赖型 NK 细胞株。这株细胞对很多恶性细胞有细胞毒性；铬释放试验显示它能杀死 K562 和 Daudi 细胞。NK-92 细胞(经过照射以防止增殖)可以有效地用于血液中白血病的体外免疫清扫而不危及血细胞的功能。NK-92 细胞有以下特征：CD2, CD7, CD11a, CD28, CD45, CD54 表面标记阳性, CD56 亮; CD1, CD3, CD4, CD5, CD8, CD10, CD14, CD16, CD19, CD20, CD23, CD34 和 HLA-DR 表面标记阴性。
种属 Species	人
组织 Tissue	恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞
形态 Morphology	淋巴母细胞
培养特性 Culture Properties	悬浮、多细胞聚集体
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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，并请注意防护
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基：MEM α (中乔新舟 货号：ZQ-800)+12.5%热灭活马血清(中乔新舟 货号：ZQH500)+12.5%进口胎牛(中乔新舟 货号：AU0600)+1%双抗(中乔新舟 货号：CSP006)+0.2mM 肌醇+0.02mM 叶酸+0.1mM β-Mer(中乔新舟 货号：CSP005)+100-200u/ml 重组 IL-2</p> <p>配套完全培养基：(品牌：中乔新舟 货号：ZQ-801)</p> <p>气相：空气，95%；CO₂，5%</p> <p>温度：37°C</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意：低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</p> <p>2.提前室温预热培养基。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 2ml 和 7ml 培养基。 2. 将冻存管放入 37°C 水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区。 3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。 4. 弃上清，轻弹管底将细胞弹散，重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中，轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。 5. 将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。 6. 过夜后，观察细胞形态和数量，及时补充培养基(补液量不要超过原体积)。 <p>注意：1. 细胞生长需要稳定的环境，每天观察 1 次，不用频繁观察；2. 复苏后 3 天左右补液一次，补充 1-2ml 完全培养基，补加 1-2 次后半量换液，不用频繁离心；3. 半量换液前将培</p>

	<p>养瓶竖立着这放置 2 小时左右，待细胞沉降后将上清轻轻吸走并离心，加入完全培养基重悬后转入原培养瓶。4.培养基明显变黄，细胞团块明显变大后可以分瓶，一次传代可以分两个同等大小培养瓶。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待其恢复细胞基本生长状态后，将整瓶细胞及培养液分批离心，详细操作参考下面步骤。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 缓冲后，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，以 1000rpm, 5min 将所有细胞悬液分别离心后收集于离心管中，半悬浮细胞，悬浮细胞操作同上。 2. 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养（建议第一次处理时分 2 个 T-25 培养瓶培养，每瓶加培养基约 7ml），第二天根据培养基颜色和细胞密度判断后补液； 3. 对于悬浮细胞和半悬浮细胞，请根据细胞数量、培养基体积和培养基颜色判断后及时进行补液(补液量不要超过原体积)。 4. 待细胞密度达到 85%以上，可进行分瓶或换液，换液时将所有细胞培养液 1000rpm,5min 离心，不建议频繁进行离心。 5. 离心后弃上清，加入新鲜培养基重悬细胞，根据细胞数量分瓶培养。 6. 如果没有特别说明，收到细胞后的第一次传代比例为 1:2，培养液必须常温。 <p>注：1. 观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. 悬浮细胞如果在培养期间出现较大团块时可在补液时轻轻吹匀细胞，有部分小团块属于正常现象；细胞达到传代密度时出现较大团块，将细胞离心后去除上清轻弹管底沉淀再重悬进行接种；冻存前可以将大团块细胞尽量分散。 3. 细胞对血清质量较为敏感，建议使用进口大品牌优质血清进行培养； 4. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请及时更换新鲜培养液； 5. 该细胞系的成功生长非常依赖于在培养基中使用的 IL-2 的质量：5.1 培养时若出现细胞状态不好，散开的细胞较多，细胞不增殖的情况，以 200U/ml 的浓度添加 IL-2, 培养 2-3 天后可恢复状态；5.2 培养基中 IL-2 降解将导致细胞状态变差，添加 IL-2 的培养基建议室温复温后使用，使用完毕及时放回 4℃冰箱保存，4℃保存不应超过两周； 6. NK-92 活细胞收货提醒：6.1 收到细胞后先竖立着静置 2-4 小时，让细胞沉降到底部；6.2 静置后将上面培养基小心吸出，留底部细胞和 4ml 左右培养基在原瓶；6.3 吸出的上清可能有部分细胞，请离心后收集并用 2ml 左右完全培养基重悬放入原瓶培养；6.4 显微镜观察，细胞密度较高可以直接分瓶，每瓶 3ml 左右细胞悬液，并加 3ml 左右完全培养基，或者原瓶培养过夜后视细胞密度和培养基消耗情况再进行分瓶，分瓶操作可以不离心。
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042） 保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>

常见问题及解决方案
Questions and solutions

1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。
 2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85% 左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)
 3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)
 4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)
- 如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。