

## 小鼠 NK 细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-MOU-00190
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	<p>自然杀伤细胞(natural killer cell ,NK)是机体重要的免疫细胞,不仅与抗肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关,而且在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生。一种稳定表达在 NK 和 LAK 细胞表面的 LAK-1 分子,120kDa, NK 细胞在 IL-2 条件下培养 20 天 LAK-1 仍为阳性,而 HNK-1(CD57)和 CD16 部分消失。LAK 的杀伤活性可被抗 LAK-1 McAb 所抑制。</p> <p>自然杀伤细胞刺激因子( natural killer cell stimulatory factor,NKSF) 对 NK 细胞有刺激作用。IL-2、IL-12、IFN-<math>\alpha</math>、TNF-<math>\alpha</math>以及白细胞调节素(leukoregulin,LR) 对 NK 细胞的活化和分化有正调节作用, 体外培养时加入上述细胞因子可明显提高 NK 的杀伤活性。前列腺素(PG)E1、E2、D2 和肾上腺皮质激素等对 NK 细胞的活性有抑制作用。</p>
分离方法及质量控制 methods and quality control	小鼠 NK 细胞采用胰酶消化制备而来,细胞总量约为 5 $\times$ 10 <sup>5</sup> cells,细胞经 CD3 - CD56 + 免疫荧光鉴定,细胞纯度可达 85%以上,且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<p><b>细胞专用培养基组分:</b> 基础培养基;胎牛血清;细胞生长因子;青霉素/链霉素溶液 (备注:每种组分单独包装,使用前需要按比例分装,详细操作详见说明书,现用现配,效果更佳。)</p> <p><b>推荐专用培养基货号: PCM-M-197</b> <b>0.05%消化液货号: CSP048</b> <b>无血清细胞冻存液: CSP077</b></p> <p><b>温度: 37<math>^{\circ}</math>C</b> <b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b></p>
培养特性 Culture Properties	悬浮
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱,请将冻存管放入 37<math>^{\circ}</math>C 的水浴中解冻,尽快复苏细胞。</b> <b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基;</li><li>2.将冻存管放入 37<math>^{\circ}</math>C 水浴锅中,握住冻存管不停晃动,直到内容物完全融化。然后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;</li><li>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悬液,加入到准备好的 15ml 离心管中,1000rpm 离心 5min;</li><li>4.弃上清后,轻弹离心管底部分散细胞沉淀,加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶(建议加液量: 5~7ml);</li><li>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布,如有必要(如使用不透气瓶),松开阀盖,以便气体交换。</li><li>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</li></ol> <p><b>小鼠 NK 细胞不建议传代;建议您收到细胞后尽快进行相关实验。</b></p>

<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</li> <li>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中，1000rpm，5 分钟离心收集培养细胞沉淀，彻底弃去离心管中的上清液。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度约为 <math>5 \times 10^5 - 1 \times 10^7</math> /ml。轻柔地混匀细胞，制成细胞混合液。</li> <li>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中，建议每管 1ml 或 1.5ml。</li> <li>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 超低温冰箱中，可长期冷冻保存。</li> <li>7. 如果想液氮中长期保存，需先放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 冰箱至少一天时间，方可移至液氮罐中保存。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液 (货号：CSP077) 推荐。</li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件：液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研，不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p><b>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，并注意防护</b></p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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)</li> <li>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)</li> <li>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)</li> </ol> <p>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。</p>
<p>备注 additional information</p>	<p><b>由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考。</b> <b>原代细胞体外培养周期非常有限，请尽快及时安排实验。</b> <b>建议中乔新舟配套的专用细胞培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。</b></p>