

货号	名称	规格	应用
SP05402-1Kit	NK 细胞激活扩增培养套装 (NK Cell Expansion Medium with Supplement)	1 Kit	细胞培养

NK 细胞激活扩增培养套装

(NK Cell Expansion Medium with Supplement)

产品说明书

产品规格: 1 Kit

产品货号: SP05402-1Kit



货号	产品名称	规格	保存条件	状态
SP05402-1Kit	NK 细胞激活扩增培养套装	1 Kit	基础培养基2~8 °C保存 ，补料≤-20 °C保存	液体
	NK 细胞激活扩增基础培养基	1000 mL×2	2~8 °C	液体
	补料A	1 mL	≤-20 °C	液体
	补料B	1 mL×2	≤-20 °C	液体
	补料C	1 mL×2	≤-20 °C	液体
	补料D	1 mL	≤-20 °C	液体
	补料E	1 mL	≤-20 °C	液体
	补料F	1 mL	≤-20 °C	液体

1. 产品描述:

本产品为NK 细胞基础培养基 (NK Cell Expansion Medium) ，是专用于NK 细胞激活扩增培养的高效增殖培养基，可搭配斯博利康NK 细胞基础培养基补料配置为完全培养基使用。

NK 细胞基础培养基+补料配置为NK细胞完全培养基是一款专为 NK 细胞培养而设计的无血清、无异源动物源成分的 NK 细胞维持和扩增培养基。和传统的含血清培养基相比，无血清培养基的设计大大降低在NK 细胞培养过程中引入异源物质的风险，提高培养基批次间的一致性，并且避免血清中的不明确成分可能导致的NK 细胞过度激活以及活性降低。



2. 产品参数:

浓度	1X
pH	7.0-7.4
渗透压	280-320 mosm/kg
内毒素	合格
保存条件	基础培养基2~8 °C保存, 补料≤-20 °C保存

3. 使用方法:

以 50 mL 人外周血提取的 PBMC 为例:

1. 完全培养基配置: 1瓶 NK 细胞激活扩增基础培养基添加1支融化后的补料A。(另一支补料A在需要时融化后添加至另一瓶基础培养基中)

注: 每次补液前都需将完全培养基放在室温下复温30min, 不得使用细胞培养箱或水浴锅复温。

2. 自体血清收集

(1) 全血吹打混匀, 离心: 4°C、2000 rpm、升速3、降速3、10 min。

(2) 用巴氏吸管收集上层淡黄色血浆于离心管, 封口, 56°C水浴锅中灭活30 min。

(3) 灭活后4°C静止30 min。然后离心: 4°C、2000 rpm、升速9、降速7、10 min, 收集上层血清, 储存于4°C冰箱备用。

3. 血样稀释: 收集血浆后的血样, 按照1:1体积比添加无菌生理盐水, 缓慢吹打混匀。

4. 分离PBMC (操作轻柔缓慢)

(1) 按照1:1体积比, 将稀释后血样缓慢添加至淋巴细胞分离液上层。

(2) 离心: 室温、800 g、升速3、降速3, 25 min。

(3) 移除上层无菌生理盐水, 用巴氏吸管收集白膜层细胞于含有无菌生理盐水的离心管中。



5. 处理PBMC

- (1) 轻柔吹打混匀细胞悬液，离心：室温、250 g、升速9、降速7、10 min。
- (2) 弃上清，弹散沉淀，使用无菌生理盐水清洗并定容至30 mL。吹打混匀，快速吸取0.2 mL细胞悬液计数。
- (3) 离心：室温、250 g、升速9、降速7、10 min。完成后弃上清，弹散沉淀。

6. 接种

- (1) 使用T75培养瓶（TC处理培养面）接种。
- (2) 活细胞密度范围为 $2.0\sim 3.0\times 10^6$ cells/mL，培养体积为20 mL。
- (3) 培养体系为：完全培养基16 mL、灭活自体血清2 mL、1支补料B、1支补料C、1支补料D。
- (4) 轻柔摇晃混匀后，放入37°C、5%CO₂的培养箱内培养。

7. 第 3 天，沿培养瓶侧壁缓慢补加19 mL 的新鲜 NK 完全培养基，和1支补料F。注意不要碰到培养瓶底部，切勿吹打细胞，不要进行计数、观察等操作，避免影响细胞初期生长。

8. 第 5 天

- (1) 轻柔吹打瓶底，用细胞悬液冲洗培养表面，然后将细胞悬液转移至新的T175培养瓶中。
- (2) 补加 35 mL 新鲜 NK 完全培养基、4 mL灭活自体血清、1支补料B、1支补料E。

9. 第 7 天，充分吹打混匀后，取样计数，根据计数结果添加新鲜NK完全培养基，调整细胞密度 $0.8\sim 1.5\times 10^6$ cells/mL，然后将剩余灭活自体血清（最大10 mL）加入培养体系中。

10. 第 9 天，充分吹打混匀后，取样计数，根据计数结果添加新鲜NK完全培养基，调整细胞密度 $0.8\sim 1.5\times 10^6$ cells/mL，本次补液后体积如 > 150 mL，则将细胞悬液转至培养袋中培养。

11. 第 11 天，充分吹打混匀后，取样计数，根据计数结果添加新鲜NK完全培养基，调整细胞密度 $0.8\sim 1.5\times 10^6$ cells/mL。

12. 第 13 天，充分吹打混匀后，取样计数，根据计数结果添加新鲜NK完全培养基，调整细胞密度 $0.8\sim 1.5\times 10^6$ cells/mL。

13. 培养至第 15-18 天收获细胞。



4. 注意:

1. 在操作过程中, 请确保培养细胞的无菌条件, 以防止细胞的污染。
2. 为保持本产品的最佳使用效果, 不宜将其长时间放置于室温或较高的温度环境中。
3. 遵循实验室安全操作规程, 使用个人防护设备, 并在必要时采取相应的生物安全级别。

免责声明: 本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

