

货号	名称	规格	应用
SP05402-0001	SperiClone™ XF Human NK Cell Expansion System	1 Kit	细胞培养

SperiClone™ XF Human NK Cell Expansion System

SperiClone™ 无异源人 NK 细胞激活扩增系统

产品说明书

产品规格: 1 Kit

产品货号:

货号	产品名称	规格	保存条件	状态
SP05402-0001	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
SP05402-basic	NK 细胞激活扩增基础培养基	1000 mL×2	2~8 °C	液体
SP05402-A	补料A	250 μL	≤-20 °C	液体
SP05402-B	补料B	1 mL×2	≤-20 °C	液体
SP05402-C	补料C	250 μL	≤-20 °C	液体
SP05402-D	补料D	500 μL	≤-20 °C	液体
SP05402-E	补料E	500 μL	≤-20 °C	液体
SP05402-F	补料F	500 μL	≤-20 °C	液体



1. 产品描述:

SperiClone™ XF Human NK Cell Expansion System 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	7.2-7.4
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 PBMC 为例:

1. 自体血清收集
 - (1) 全血吹打混匀, 离心: 4°C、900×g、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) 灭活后离心: 4°C、1200×g、升速9、降速7、10 min, 收集上层血清, 储存于4°C冰箱备用。
2. 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。
3. 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。

4. 处理PBMC

(1) 轻柔吹打混匀细胞悬液，离心：室温、400×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、400 g、升速9、降速7、10 min。完成后弃上清，弹散沉淀。

5. 接种

(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B，（另一支补料B在需要时融化后添加至另一瓶基础培养基中）充分混匀。吸取30 mL完全培养基于50 mL离心管内于室温备用，剩余完全培养基储存于4℃。配置好的完全培养基有效期为21天。

(2) 接种前，吸取5 mL常温的完全培养基，加入融化后的1支补料A、1支补料C、1支补料E、5%体积灭活自体血清，吹打混匀，接入T75培养瓶内，平铺培养表面。

(3) 将处理好的PBMC用10 mL常温的完全培养基重悬，轻柔吹打混匀，接种至T75培养瓶内。摇晃混匀后放入CO₂培养箱培养。

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

接种后活细胞密度范围为2.0~4.0×10⁶ cells/mL，培养体积为15mL（如有多余PBMC可冻存储存）。

6. 第 3 天，沿培养瓶侧壁缓慢补加15 mL 复温后的新鲜 NK 完全培养基，和5%体积灭活自体血清。轻柔摇晃均匀后放回培养箱继续培养。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NK细胞初期生长。

7. 第 5 天

(1) 吸取30 mL完全培养基于50mL离心管内，室温下复温，剩余完全培养基储存于4℃。



- (2) 复温后的培养基加入融化后的1支补料D、1支补料F、5%体积灭活自体血清吹打混匀，接入新的T175培养瓶内。
- (3) 轻柔吹打细胞悬液，用细胞悬液冲洗T75培养瓶表面（最多冲洗3次），然后将细胞悬液转移至新的T175培养瓶中，混合后摇晃混匀，放回培养箱继续培养。
8. 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 $0.8-1.5 \times 10^6$ cells/mL，然后加入5mL灭活自体血清。本次补液后体积如果在150~300mL内，则将细胞悬液转至培养袋中培养，培养袋对折放置。
9. 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 $0.8-1.5 \times 10^6$ cells/mL，如有剩余灭活自体血清，则全部加入至培养体系内。
10. 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 $0.8-1.5 \times 10^6$ cells/mL。
11. 培养至第 14~18 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. T75和T175培养瓶应当使用经TC处理的培养表面。细胞培养袋建议使用Takara的淋巴细胞培养袋。
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。

