

人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞NK-92

Cat No.:JY113



Description

种属	人
别称	NK92; Natural Killer-92; NK-92.05; Neukoplast; aNK
组织来源	外周血
疾病	恶性非霍奇金淋巴瘤, 自然杀伤细胞; nk细胞
传代比例/细胞消化	1:2传代
完全培养基配置	75%MEMα(成分: 含2mL谷氨酰胺, 1.5g/L碳酸氢钠, 不含核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸), +12.5%热灭活马血清+12.5%进口胎牛+1%双抗+0.2mM肌醇+0.02mM叶酸+0.1mM β-Mer+200U/ml IL-2
简介	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。
形态	淋巴瘤细胞样
生长特征	悬浮生长
倍增时间	~40-50h
STR	Amelogenin: X,Y CSF1PO: 11,12 D13S317: 9,12 D16S539: 11,12 D5S818: 12,13 D7S820: 10,11 THO1: 6,9.3 TPOX: 8 vWA: 18
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37摄氏度, 培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%, 或使用非程序冻存液: 官网货号JY-H040
保藏机构	ATCC; CRL-2407
	该细胞为悬浮细胞, 请注意离心收集细胞悬液, 请勿直接倒掉细胞培养液。
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止2-3小时稳定 细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37℃培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 2) 静置完成后，请在4或5X显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 悬浮细胞：T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。
- 4) 贴壁细胞：细胞在37℃培养箱中放置2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。
- 5) 半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25瓶置于37℃培养箱中约2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在60%以下，客户需收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。
- 6) 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

细胞处理：

1. 复苏细胞：从液氮罐中或-80℃冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃。

1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻；

2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。

3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2. 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

1) 方法一：将细胞悬液收集到离心管中1000rpm，离心5min，弃去上清，补加1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。

方法二：

1) 半换液处理，竖着培养瓶在培养箱静置 10-20min 左右，肉眼可见大部分细胞沉在底部；

2) 轻轻吸掉 3ml 左右培养基，将剩余细胞悬起混匀；

3) 将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中，一般这样传代 3 次左右可以离心传代一次。

3. 细胞冻存：

1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml.

2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。