

NK-92细胞说明书

Cat NO.: CL-0530

1. 售前须知：

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。

2. 基本信息：

中文名称	人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞
细胞简称	NK-92
细胞别称	NK92; Natural Killer-92; NK-92.05; Neukoplast; aNK
细胞形态	淋巴母细胞样
生长特性	悬浮细胞
培养方案A(默认)	生长培养基：MEM (PM150422) + 0.2mM Inositol + 0.1mM β -mercaptoethanol + 0.02mM Folic Acid + 100-200U/mL recombinant IL-2(PB180634) + 12.5% HS(164215) + 12.5% FBS(164210-50) + 1% P/S(PB180120)
培养条件	气相：空气，95%；CO ₂ ，5%；温度：37
冻存条件	90%FBS+10%DMSO 液氮
传代步骤	可通过补充新鲜培养基或者离心换液两种方式维持培养，离心转速参考1200 rpm（250g左右），离心3分钟
传代比例（密度）	5×10^5 - 1×10^6 cells/mL
换液频次	2-3次/周
收货注意事项	NK-92常温细胞收货注意事项 1. 细胞刚收到后先竖立着静置2~4个小时，让细胞沉降到底部。2. 细胞静置完后把瓶中培养基上面部分培养基小心吸出，留底部细胞和3ml左右培养基在原瓶。3. 吸出的细胞离心收集细胞沉淀，离心转速1200转3分钟，或者根据您的离心机实际情况而定。4. 将得到的细胞沉淀用该细胞对应的完培重悬后放回原瓶继续培养过夜，一个T25最终培养体积是5~6



毫升。5. 我们出厂的培养瓶为不透气瓶盖，一定要拧松到不掉的程度，使细胞透气。6. 培养瓶横放瓶口拧松透气培养过夜。7. 第二天视细胞密度和培养基消耗情况进行分瓶，可以不离。离心。

3. 参考资料(来源文献)：

细胞背景描述	NK-92细胞是从一位患有急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IL-2依赖型NK细胞株。NK-92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细胞和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；CD1、CD3、CD4、CD5、CD8、CD10、CD14、CD16、CD19、CD20、CD23、CD34和HLA-DR表面标记阴性。
倍增时间	~40-50 hours
供体年龄	男性；50岁
组织来源	外周血
细胞类型	肿瘤细胞
肿瘤类型	淋巴瘤细胞
生物安全等级	BSL-2
细胞保藏中心	ATCC; CRL-2407 DSMZ; ACC-488

细胞株培养扩增技术服务申明

本公司受贵单位委托，进行细胞株的技术服务工作，并收取相应细胞株技术服务费用，细胞株技术服务具体项目清单见订购合同。本公司提供完善的技术支持及售后服务，收到产品后处理方式及相应售后条款参见《细胞售后条例》。

收到常温细胞后如何处理？

(细胞培养详细操作步骤请参照《普诺赛细胞培养操作指南》)

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 用75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养2-4小时，以便稳定细胞状态。



3. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如贴壁特性（贴壁/悬浮）、细胞形态、所用基础培养基、血清比例、所需细胞因子、传代比例、换液频率等。
4. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照、记录细胞生长状态。
5. 若观察到异常或者对细胞有疑问，请及时跟代理商或我们联系；对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可跟我们的技术支持交流。

发表[中文论文]请标注：NK- 92 (CL-0530)由武汉普诺赛生命科技有限公司提供；

发表[英文论文]请标注：NK- 92 (CL-0530) were kindly provided by Wuhan Pricella Biotechnology Co.,Ltd.

NK-92细胞收货以及培养注意事项

► NK-92常温细胞收货注意事项：

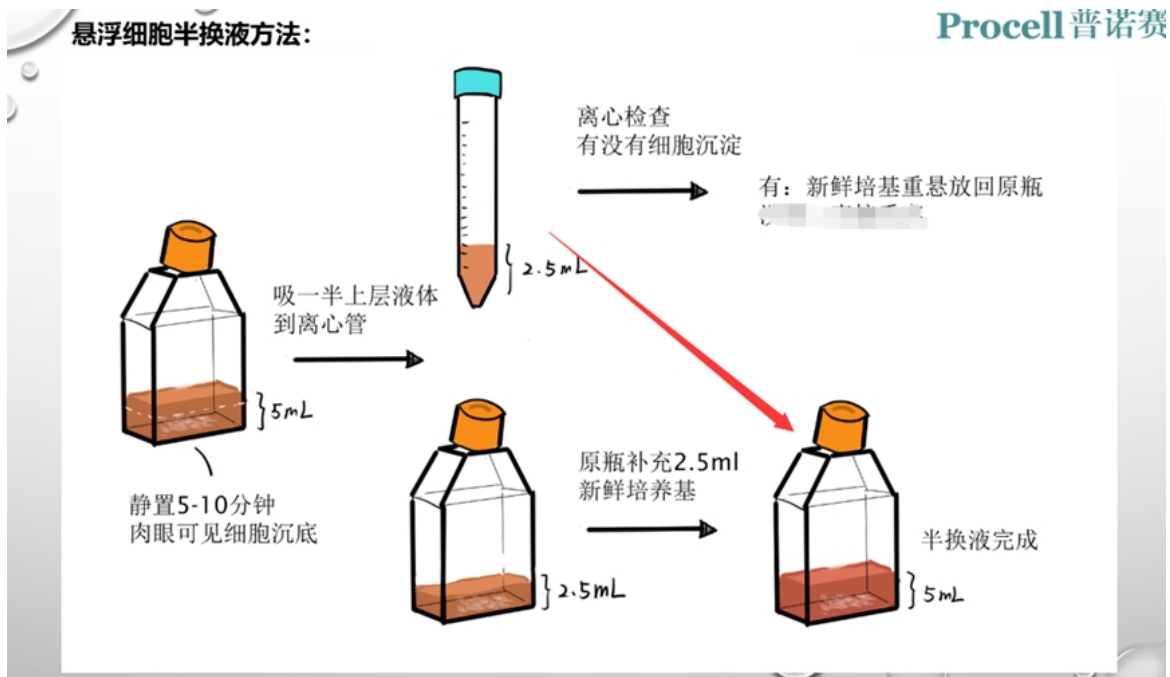
1. 细胞刚收到后,将细胞培养瓶先**竖立静置** 2-4 个小时，让细胞沉降到底部；
2. 细胞静置完后把瓶中上面部分培养基小心吸出，留底部细胞和 3mL左右培养基在原瓶；
3. 吸出的细胞培养基离心收集细胞沉淀，离心转速 1200 rpm（250g左右）3 分钟，或者根据您的离心机实际情况而定，转速不宜过高；
4. 将得到的细胞沉淀用 2-3mL NK-92 完培重悬后放回原瓶继续培养过夜，可按照 200 U/ml的浓度补加一点 IL-2，因为原瓶留的培养基 IL-2 可能已部分失效，一个 T25 最终培养体积是 5-6 毫升；
5. 我们出厂的培养瓶为不透气瓶盖，一定要拧松到不掉的程度，使细胞充分透气；
6. 培养瓶横放，瓶口拧松透气培养过夜；
7. 第二天视细胞密度和培养基消耗情况进行分瓶，不建议离心，因为运输和第一天刚处理的，所以第二天状态可能还没恢复到最好，这时候分瓶后直接补液，加 IL-2，尽量不要吹散细胞团，加完液轻晃瓶子即可。

►NK-92 培养注意事项：

1. NK-92 为悬浮生长，大部分细胞聚集成团，少数分散的细胞，并且细胞间隙会有较多的死细胞和细胞碎片；
2. NK-92 细胞对 IL-2 敏感，培养基中 IL-2 降解将导致细胞状态变差；IL-2 在 -20℃ 解冻后置于 4℃ 保存，4℃ 保存不应超过两周。配制好的新鲜培养基要尽快用完，建议每次使用前拿出来常温预热，不要放培养箱预热，使用完毕放回 4℃ 冰箱保存；
3. 实验室常备 IL-2，发现细胞状态不好，散在细胞变多，细胞不生长等情况，以 200 U/ml 的浓度添加 IL-2，培养 2-3 天后即可恢复状态；
4. NK-92 对离心敏感。正常培养时换液周期为 2-3 天，建议使用半量换液和离心换液交替进行，即半量换液 2~3 次后离心全量换液一次，尽量减少离心次数，细胞状态不佳或细胞量少时候一般不建议离心；
5. 换液方法：



- 补液法：每 2-3 天补加适量（根据培养容器和原来细胞悬液体积来定，T25瓶一次补液 1-2 毫升即可）新鲜培养基，同时补加 200 U/ml IL-2，补加 2-3 次之后离心全部换液。
- 半换液法：以 T25 瓶子为例，瓶子里 5mL 培养基。竖起瓶子静置一段时间（竖瓶前轻拍培瓶，让轻贴底部的细胞团浮起来），待细胞沉底（肉眼观察细胞沉底情况），小心吸出 2.5mL 上清转移到离心管，离心 1200 rpm（250g 左右）3-5min，检查有没有沉淀，以免损失细胞；原瓶补充 2.5mL 新鲜培养基，如果原来细胞量不是很足并且处于扩增状态，建议用新鲜培养基重悬后放回原瓶。



6. 细胞生长时聚集的细胞团会逐渐增大，正常的细胞团显微镜下为白色透亮的，若细胞聚集太多，出现细胞团中部发暗时可传代；
 - 传代方法：将细胞团用移液器轻轻吹散（一般吹 2-3 次即可），吹打力度不可过大，否则会出现大量死细胞和细胞碎片。均分到两个瓶子里，每瓶再补充等量培养基。
7. 细胞对营养要求也很高，千万不能团块太大导致营养不足；细胞团块过大也是需要稍微吹散，注意控制吹打次数，不需要全部吹散。

NK-92 冻存细胞复苏培养注意事项：

复苏后 5mL 新鲜培养基重悬细胞；

瓶子竖着放进培养箱（瓶盖朝上），以增加细胞局部密度，瓶盖保持透气；

细胞生长需要稳定的环境，每天观察 1 次，不要频繁拿出培养箱观察；

复苏后每 3 天补液一次，补充 1-2mL 新鲜培养基即可，补加 1-2 次之后半量换液，不要频繁离心；

观察到培养基明显变黄，细胞团块明显变大后可以分瓶，一次传代最多分一瓶同等大小培养瓶。



➤ 细胞冻存:

1. 推荐使用 90%FBS+10%DMSO 的冻存液配比，有条件可适量补加 IL-2;
2. 细胞冻存的时候尽量吹散细胞，注意控制吹打力度。

➤ 关于细胞团块要不要吹散的问题:

1. 减少离心次数以及控制传代时候的吹打次数，不需要刻意吹散成单颗，不是完全不能吹散;
2. 正常传代或者离心换液后吹打，控制吹打次数以及力度，即使细胞都分散成单个的也会在 1-2 天内聚集起来;
3. 细胞团太大是需要分散的;
4. 细胞冻存的时候细胞需要尽量分散。

