

## CellThera™ NK Cell Expansion Medium (Phenol Red-free) 说明书

**货号：NK-CM31**

### 产品概述：

NK 细胞扩增无血清培养基是一款用于 NK 细胞培养的无血清、无动物源成分、无抗生素的 NK 细胞维持和扩增培养基。和含动物源血清的培养基相比，无血清培养基大大降低了 NK 细胞培养过程中引入异源物质的风险，同时培养基成分的批间比含血清更稳定，提高了培养基的批间一致性。经实验验证，NK 细胞扩增无血清培养基适合纯因子激活体系、滋养层细胞激活体系，需搭配热灭活自体血浆或人 AB 血清使用。

### 组分内容：

货号	组分名称	规格	保存温度	效期
CM3102	CellThera™ Immune Cell Basal Medium (Phenol Red-free)	1000ml	2°C -8°C，避光	18 个月
CM31S2	CellThera™ Immune Cell Supplement C	8ml	-20°C 及以下，避光	12 个月

### 使用方法：

#### 配制完全培养基：

在生物安全柜内打开 NK 细胞无血清基础培养基与 NK 无血清培养基添加物，每 1000mL 基础培养基中加入 8ml 添加组分，加入后颠倒 3~5 次混匀，配制后的培养基可在 2-8°C 保存 3-4 周。

#### PBMC 中 NK 细胞的激活和扩增培养：

以新鲜 PBMC、纯因子激活体系、添加 AB 血清为例

1. 培养瓶预处理：取细胞培养孔板或者培养瓶，加入包被因子，前后左右晃动，使液体均匀分散在瓶底或板底，封口膜封好瓶口，置于 2-8°C 活化过夜
2. 第 0 天，取出 2-8°C 活化过夜的培养瓶或培养板，吸弃包被液。使用适量 NK 培养基（添加 10% 的 AB 血清）重悬 PBMC 接种于培养板或者培养瓶中（推荐 PBMC 接种密度  $1.5 \times 10^6$  cells/mL），添加适量的激活因子以及 NK 生长因子，放入 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
3. 第 3 天，沿培养孔板或培养瓶侧壁缓慢补加与第 0 天等量的新鲜 NK 培养基（添加 10% 的 AB 血清）以及适量的 NK 生长因子。注意：不要碰到培养瓶或培养板底部，切勿吹打细胞和计数、减少观察等操作，避免影响细胞初期生长。
4. 第 5 天，取样计数，补加新鲜 NK 培养基（添加 5% 的 AB 血清）以及适量的 NK 生长因子，调整细胞密度  $3 - 3.5 \times 10^5$  cells/mL，根据细胞悬液体积进行扩孔或者扩瓶。
5. 第 7 天，取样计数，补加新鲜 NK 培养基（添加 1-2% 的 AB 血清）以及适量的 NK 生长因子，调整细胞密

度  $2.5-3 \times 10^5$  cells/mL, 根据细胞悬液体积进行扩孔或者扩瓶。

6. 从第 7 天开始, 可以每 3 天补加新鲜 NK 培养基 (添加 1-2% 的 AB 血清) 以及适量的 NK 生长因子, 调整细胞密度  $2.5-3 \times 10^5$  cells/mL, 根据细胞悬液体积进行扩孔或者扩瓶。

7. 培养至第 12-14 天收获细胞。

注意:

培养基平衡至室温使用。

培养基同时适用于 PBMC 和 CBMC。

对于 CBMC, 第 0 天, 推荐 CBMC 接种密度  $2.5 \times 10^6$  cells/mL, 传代操作和推荐传代密度同 PBMC。

## 相关产品

- GMP Human IL-2 Protein (Cat. No. GMP-L02H14)
- GMP Human IL-12 Protein (Cat. No. GMP-L12H23)
- GMP Human IL-15 Protein (Cat. No. GMP-L15H13)
- GMP Human IL-18 Protein (Cat. No. GMP-L18H16)
- GMP Human IL-21 Protein (Cat. No. GMP-L21H25)
- GMP Monoclonal Anti-Human CD3 Antibody (OKT3) (Cat. No. GMP-MC0323)
- GMP Human 4-1BB Ligand Protein, Fc Tag (Cat. No. GMP-41LH26)