

## NK-92 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞

### 培养说明书

名称	NK-92 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞
种属	人类
组织来源	外周血
生长特性	悬浮细胞
细胞形态	淋巴母细胞样
背景描述	NK-92 细胞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 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。
培养体系	MEM $\alpha$ + 0.2mM Inositol + 0.1mM $\beta$ -mercaptoethanol + 0.02mM Folic Acid + 100-200U/mL recombinant IL-2 + 12.5% HS + 12.5% FBS + 1% P/S
传代比例	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ cells/mL
换液频率	2~3 次/周
冻存条件	冻存液：55% 基础培养基 + 40% FBS + 5% DMSO 温度：液氮
培养条件	95% Air; 5% CO <sub>2</sub> ; 37° C
备注	建议收到细胞后，尽快更换新的培养液或传代

\*本库的细胞系（株）仅用于科研工作，未经许可不得用于其他目的。

### 复苏细胞接收后如何处理

1. 收到细胞后，请及时检查并拍照记录是否瓶身破损或有无漏液，培养液是否混浊等，如有请及时反馈。
2. 用 75%酒精消毒瓶身，放 37℃培养箱中静置 2-4h 后，显微镜下观察细胞状态并拍照记录（所拍照片将作为后续售后依据）。
3. 若细胞生长密度超过 80%以上，可直接消化传代；若密度低于 80%时，移除细胞培养瓶内培养基，预留 8-10ml 原瓶培养基继续培养，直到细胞密度 80%左右再进行传代操作，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖。
4. 若有贴壁细胞漂浮的，可收集上清离心，将沉淀用新的培养基接种至新的培养瓶或培养皿中。
5. 建议收到当天不要消化处理，如果细胞长满 90%，可选择传代处理。
6. 若收到细胞异常时，请及时与我们联系，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。

### 冻存细胞接收后如何处理

1. 干冰运输，收到细胞后立即转入-80℃冰箱短暂中转或直接复苏；
2. 收到细胞后，若发现干冰已经完全挥发、冻存管瓶盖破裂脱落，请及时拍照后与我们联系。

### 细胞培养基本步骤

1. 细胞传代：细胞密度达到 80-90%时即可传代培养
  - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次；
  - ②加入 1-2ml 0.25%胰酶（T25 瓶），使胰酶覆盖整个瓶或皿，盖好放入 37℃培养箱消化；
  - ③1-2min 后，显微镜下观察细胞，若大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；若细胞还是贴壁，放回培养箱继续消化至可以轻轻吹打下为止；
  - ④将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清；
  - ⑤用新鲜培养基重悬后加入培养瓶或皿中，T25 培养瓶加 6-8ml 培养基；
  - ⑥悬浮细胞直接离心收集，细胞沉淀重悬后分到新培养瓶中。
2. 细胞复苏：
  - ①将冻存管在 37℃温水中快速摇晃融化，时间 1min 左右，加入 4-5ml 培养基混匀。
  - ②在 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1-2ml 培养基吹匀，将细胞悬液加入培养瓶中，补加适量培养基。
3. 细胞冻存：待细胞生长状态良好时进行细胞冻存保种
  - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次，加入 1ml 0.25%胰蛋白酶（T25 瓶）
  - ②1-2min 后，显微镜下观察细胞，大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；
  - ③将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1ml 冻存液重悬细胞；
  - ④将冻存管放入程序降温盒，放入-80℃冰箱，4 小时后将冻存管转入液氮罐储存。