

CelThera™ NK Cell Activation and Expansion Kit (Phenol Red-free)

Cat. No. NK-CM32

产品概述:

CelThera™ NK Cell Activation and Expansion Kit (Phenol Red-free) 是一款纯因子激活体系的，用于NK细胞培养无血清、无动物源成分、无抗生素添加的NK细胞扩增Kit。和含动物源成分或动物源血清的Kit相比，NK细胞扩增Kit大大降低了NK细胞培养过程中引入异源成分的风险，同时由于无血清、无动物源成分的批间比含动物源成分或动物源血清更稳定，提高了kit批间一致性。CelThera™ NK Cell Activation and Expansion Kit (Phenol Red-free) 需搭配人AB血清或者自体血浆使用。

组分内容:

1-3L 培养基体系，适用于 10-30ml 外周血或脐带血的样本

货号	组分名称	1L规格	2L规格	3L规格	保存温度	效期
CM3102	CelThera™ Immune Cell Basal Medium (Phenol Red-free)	1000ml*1	1000ml*2	1000ml*3	2°C-8°C, 避光	18 个月
CM31S2	CelThera™ Immune Cell Supplement C	8ml*1	8ml*2	8ml*3	-20°C及以下, 避光	12个月
CM31S4	CelThera™ NK Cell Expander 1	240ul*1	240ul*1	240ul*1	-20°C及以下, 避光	24个月
CM31S5	CelThera™ NK Cell Expander 2	240ul*1	240ul*1	240ul*1	-20°C及以下, 避光	24个月
CM31S6	CelThera™ NK Cell Expander 3	0.12ug*1	0.12ug*1	0.12ug*1	-20°C及以下, 避光	24个月
CM31S7	CelThera™ NK Cell Expander 4	200ul*1	200ul*1	200ul*1	-20°C及以下, 避光	24个月
CM31S8	CelThera™ NK Cell Expander 5	1ml*1	1ml*2	1ml*3	-20°C及以下, 避光	24个月

注意:

1. -20°C及以下储存条件的组分需在室温或者4°C条件下融化。
2. 本试剂盒内随货附赠 CelThera™ GMP Phenol Red Solution (0.5%) (Cat# GMP-PI1100) 1瓶，若细胞培养过程中需使用酚红指示剂，可取1.5mL该溶液至1L CelThera™ Immune Cell Basal Medium (Phenol Red-free) 中。

使用方法:

A. 培养基配制

1.完全培养基:

取8ml融化的添加物CM31S2加入到1000ml基础培养基CM3102中，混匀备用（2-8°C，3-4周内用完）

2.包被稀释液:

取全部融化的Expander 1，加入到24ml DPBS中。再次吸取1-2 ml DPBS将Expander 1润洗1次加入DPBS中，混匀备用。

3.激活培养基:

取全部融化的Expander 4溶解Expander 3干粉，充分溶解混匀后，全部加入到150ml完全培养基中。再次吸取完全培养基1-2ml将Expander 4和Expander 3润洗1次加入到完全培养基中，混匀备用（激活培养基存放于2-8°C，1周内用完）。

3.1 起始激活培养基（day0-day3）:

取全部融化的Expander 2，加入到24ml激活培养基中。再次吸取激活培养基1-2ml将 Expander 2润洗1次加入到激活培养基中，并添加10%人AB血清或自体血浆，混匀备用（现用现配）。



3.2 激活培养基 (day3-day5) :

取24ml激活培养基, 并添加10%人AB血清或自体血浆, 混匀备用 (现用现配)。

3.3 激活培养基 (day5-day7)

取剩余的100ml激活培养基, 并添加5%人AB血清或自体血浆, 混匀备用 (现用现配)。

4. 扩增培养基:

取1ml融化的Expander 5加入到1000ml完全培养基中 (如果前面步骤已取走部分完全培养基, 瓶内剩余完全培养基则按照Expander 5和完全培养基体积比为1: 1000换算需要添加的Expander 5体积, 并向完全培养基中添加Expander 5), 并添加1%人AB血清或自体血浆, 混匀备用 (扩增培养基存放于2-8°C, 1-2周内用完)。

B. NK细胞的激活和扩增培养:

以PBMC, 添加AB血清为例

1. 第-1天:

将**包被稀释液**加入到1支T75培养瓶中, 使液体均匀分散在瓶底, 封口膜封好T75培养瓶口, 置于2-8°C包被过

2. 第0天:

2.1取出2-8°C包被过夜的T75培养瓶, 恢复至室温

2.1取20ml**起始激活培养基 (day0-day3)** 重悬PBMC (推荐接种密度 1.5×10^6 cells/ml)

2.2吸弃T75培养瓶中的包被液

2.3将重悬的PBMC全部加入到T75培养瓶中, 使细胞均匀分布, 置于37度CO₂培养箱中培养

3. 第3天:

沿T75培养瓶侧壁缓慢补加20ml**激活培养基 (day3-day5)**, 并置于37度CO₂培养箱中继续培养

(注: 不要碰到培养瓶底部, 切勿吹打细胞和计数, 以免影响细胞初期生长)

4. 第5天:

从37度CO₂培养箱中取出T75培养瓶, 取样计数, 补加**激活培养基 (day5-day7)**, 根据细胞总数扩瓶, 并置于37度CO₂培养箱中继续培养

(注: 细胞总数在 4×10^7 以下, 补加40ml**激活培养基 (day5-day7)**, 接种2支T75培养瓶; 细胞总数在 4×10^7 以上, 补加80ml**激活培养基 (day5-day7)**, 接种3支T75培养瓶)

5. 第7天:

从37度CO₂培养箱中取出T75培养瓶, 取样计数, 并使用**扩增培养基**调整细胞密度至 $3-4 \times 10^5$ /ml, 转移到培养瓶或培养袋中, 并置于37度CO₂培养箱中继续培养

6. 第9天:

从37度CO₂培养箱中取出培养瓶或培养袋, 取样计数, 并使用**扩增培养基**调整细胞密度至 $3-4 \times 10^5$ /ml, 扩瓶或扩袋, 并置于37度CO₂培养箱中继续培养

7. 第11天:

从37度CO₂培养箱中取出培养瓶或培养袋, 取样计数, 并使用**扩增培养基**调整细胞密度至 $3-4 \times 10^5$ /ml, 扩瓶或扩袋, 并置于37度CO₂培养箱中继续培养

8. 第13-15天:

从37度CO₂培养箱中取出培养瓶或培养袋, 取样计数, 离心并收获细胞

注意:

1. 培养基平衡至室温使用





2. Expander1,2,3,4,5避免反复冻融
3. Kit同时适用于PBMC和CBMC
4. 推荐CBMC起始接种密度 2.5×10^6 cells/ml，传代操作和推荐传代密度同PBMC
5. 如果起始PBMC和CBMC数量较少，建议按照下表进行调整

培养器皿	包被稀释液	起始激活培养基 (day0-day3)	接种PBMC密度	接种CBMC密度
T25	8ml	8ml	1.5×10^6 cells/ml	2.5×10^6 cells/ml
6孔板 (每孔)	3ml	3ml	1.5×10^6 cells/ml	2.5×10^6 cells/ml
12孔板 (每孔)	1ml	1ml	1.5×10^6 cells/ml	2.5×10^6 cells/ml

Discounts, Gifts,
and more!

