

NK-92MI 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞

产品基本信息

细胞名称：NK-92MI ， 人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞

种属来源：人

组织来源：外周血

细胞形态：淋巴母细胞样

生长特性：悬浮生长

培养基： 在不含核糖核酸苷和脱氧核糖核酸苷，但含有 2mm L-谷氨酰胺和 1.5 g/L 碳酸氢钠的 Alpha Minimum Essential medium(α MEM)中加入以下成分： 0.2 mM 肌醇;0.1 mM β 巯基乙醇； 0.02 mM 叶酸;终浓度为 12.5%的马血清(HS)和 12.5%的胎牛血清(FBS)+1%PS

生长条件：气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃

传代方法：1:2 至 1:3，每周 2-3 次

冻存条件：无血清冻存液，液氮储存

支原体检测：无

注：1.该细胞复苏后需一周左右时间方可恢复状态，冻存时密度尽量大些。

2. 培养过程中有少量细胞分泌物属于正常现象，不影响细胞生长。

3. 传细胞时，细胞不能在培养箱外放太久，最好小于 1 h

4. 重悬细胞要轻柔，不要太剧烈

细胞培养操作

1) 复苏细胞：37℃水浴融化后，850 rpm 离心 5 min，弃冻存液，加入培养基重悬，在培养瓶中培养，起始密度为每毫升 $2-3 \times 10^5$ 个细胞

2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

摇晃培养瓶，使细胞粗略混匀，取细胞计数，按每毫升 $2-3 \times 10^5$ 个活细胞的细胞密度进行全换液或半换液。每 48 h 传一次。

3) 细胞冻存：冻存液：10%DMSO+50%FBS+40%完全培养基，细胞计数后，取 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞，850 rpm 离心 5 min，弃原培养基，加入 1 mL 冻存液，轻轻混匀，标注封口后，放入冻存盒，置于-80℃ 24 h，隔天再置于液氮气象。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。**观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置 4-6h。**
4. 贴壁细胞可以消化，悬浮细胞直接混匀收集细胞，900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，弃上清。加 5 mL PBS 重悬细胞，再 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，用新鲜的完全培养基重悬细胞，并接种到新的培养瓶或培养皿中，置于培养箱中进行培养。
5. **请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。**
6. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
7. 该细胞仅供科研使用。
8. **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 1: 2 传代。**
9. **注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。**

悬浮细胞收货注意事项：

- 1、**收货时需镜下拍照（看密度、状态）**
- 2、**静置后需镜下拍照（看整体密度）**
 - a. 如密度 50%以下，建议换液并竖瓶培养
 - b. 如密度 50%-80%，建议换液培养，隔天观察密度
 - c. 如密度 90%，建议传代
- 3、**换液及传代处理前，培养瓶竖着放置至少半小时（使细胞沉到瓶底）；收集上清，必须将瓶内所有培养基（70ml）全部收集！并用 PBS（10ml）润洗瓶底并收集！离心转速为 1000rpm，5min。**