

ExCell Bio

OptiVibro® NK 细胞扩增试剂盒 P01 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货 号

NE000-N022

NE000-N021

NE000-N021S



产品概述

OptiVibro® NK 细胞扩增基础试剂盒 P01 是一款专为 NK 细胞培养而设计的无血清、无异源动物源成分的扩增培养试剂盒，包括 OptiVibro® NK 细胞无血清基础培养基 P01、OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分 UE01、OptiVibro® 细胞因子 I、OptiVibro® 细胞因子 II 和 OptiVibro® 细胞因子 III。OptiVibro® NK 细胞扩增基础试剂盒 P01 适用于从人外周血单个核细胞 (PBMC)、脐带血单个核细胞中选择性扩增 NK 细胞。OptiVibro® NK 细胞扩增试剂盒 P01 可以与 OptiVibro® NK 细胞扩增基础试剂盒 P01 (NE000-N032) 配合使用，在 OptiVibro® NK 细胞扩增试剂盒 P01 基础上支持更大批量的 NK 细胞扩增需求。

产品规格及储存、运输要求

货号	产品名称	规格	存储条件	运输条件	有效期
NE000-N022	OptiVibro® NK细胞扩增试剂盒P01	1000 mL kit	-	-	-
BA0092	OptiVibro® NK细胞无血清基础培养基P01	1000 mL	2- 8 °C 遮光	<25°C 遮光	12个月
BA0332	OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分UE01	8 mL	2- 8 °C 避光	<25°C 避光	18个月
BA0112	OptiVibro® 细胞因子I	45 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0122	OptiVibro® 细胞因子II	150 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0132	OptiVibro® 细胞因子III	310 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
NE000-N021	OptiVibro® NK细胞扩增基础试剂盒P01	500 mL	-	-	-

		kit			
BA0091	OptiVibro® NK细胞无血清基础培养基P01	500 mL	2- 8 °C 遮光	<25°C 遮光	12个月
BA0331	OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分UE01	4 mL	2- 8 °C 避光	<25°C 避光	18个月
BA0111	OptiVibro® 细胞因子I	22.5 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0121	OptiVibro® 细胞因子II	75 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0131	OptiVibro® 细胞因子III	155 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
NE000-N021S	OptiVibro® NK细胞扩增试剂盒P01	100 mL kit	-	-	-
BA0091S	OptiVibro® NK细胞无血清基础培养基P01	100 mL	2- 8 °C 遮光	<25°C 遮光	12个月
BA0331S	OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分UE01	0.8 mL	2- 8 °C 避光	<25°C 避光	18个月
BA0111S	OptiVibro® 细胞因子I	9 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0121S	OptiVibro® 细胞因子II	30 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月
BA0131S	OptiVibro® 细胞因子III	31 µL	- 20 °C 遮光	<0°C 遮光	12个月

I 产品特点、应用与使用限制

1. 将培养基存放在遮光环境中保存，最好使用有色包装袋包装，以防止光线照射。
2. 在运输过程中，避免长时间暴露在灯光下，以防止变色。
3. 对于需运输到无菌区域后使用的情况，可使用消毒剂对瓶身和瓶口进行消毒，避免使用紫外线消毒。
4. 通过紫外线消毒窗口进行转移时，应提前关闭紫外线灯。
5. 可添加热灭活自体血浆、血清替代物（人血小板裂解物）或人AB血清使用，但是不可添加ICSR产品使用。

I 操作说明

配制完全培养基

1. 将OptiVibro® NK细胞无血清基础培养基P01和OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分UE01在室温下平衡1-4小时。在生物安全柜内打开基础培养基与添加组分的盖子，每1L/500mL基础培养基中添加8mL/4mL添加组分，盖好基础培养基的盖子，颠倒3~5次混匀，即得到完全培养基。
2. 每1000mL/500mL完全的OptiVibro® NK细胞无血清培养基P01加入1支310 μ L /155 μ L OptiVibro® 细胞因子III，为NK细胞扩增完全培养基（以下简称NK培养基），配制后有效期为3周，也可将细胞因子III进行分装，根据比例减少完全培养基配制量，延长使用时间，细胞因子III冻融次数不超过3次。

【注意事项】

使用培养基前将添加组分和基础培养基分别置于室温 1-4 小时，恢复至室温后进行混合。基础培养基与添加组分混合后，可放于 2-8℃保存，建议两周内用完。添加组分在 2-8℃保存时可能有少量析出，为

正常现象，不影响使用，放于室温 1-4 小时后，待所有成分溶解后使用。细胞因子放于室温约 10 min 至融化后、瞬离后再开盖使用。

PBMC 中 NK 细胞的激活和扩增培养

以新鲜 PBMC、T75 培养瓶、添加热灭活自体血浆培养为例。

1. 第 0 天

T75 培养瓶预处理：室温下融化 OptiVibro® 细胞因子 I，取 50 mL 离心管，加入 15 mL DPBS，吸取 45 μ L OptiVibro® 细胞因子 I 至 DPBS 中（若 OptiVibro® 细胞因子 I 一次性用完，建议吸取 50 mL 离心管内 1 mL DPBS 将 OptiVibro® 细胞因子 I 管冲洗 1 次并加回离心管内），上下颠倒混匀，加入底面积 75 cm² 的细胞培养瓶（T75）中，前后左右晃动，使液体分散在瓶底，4°C 包被过夜或 37°C 紧急包被至少 2 小时。

PBMC 接种：取出活化过的 T75 培养瓶，弃掉包被液（不用 PBS 润洗培养瓶），在 T75 瓶中分别加入 NK 培养基、一支 150 μ L OptiVibro® 细胞因子 II、10% 比例的自体血浆（1.5 mL）和种子细胞，总体积为 15 mL。前后左右晃动，放入 37 °C，5%CO₂ 培养箱中培养。

【注意事项】

1. 过夜包被的培养瓶在细胞接种前 10min 取出弃掉包被液，不可过早取出。
2. PBMC 铺瓶的起始细胞密度建议 $2-2.5 \times 10^6$ cells/mL，脐血初始 NK 比例较低时，可适当提高初始铺瓶细胞密度至 3×10^6 cells/mL。接种密度过低或过高对最终收获的细胞数和 NK 纯度都会有影响。
3. 接种细胞时，电动移液枪取细胞悬液打到非包被接触的瓶底，轻轻晃动瓶子铺匀，时间尽量短。

2. 第 3 天

沿培养瓶侧壁缓慢补加 13.5 mL 的 NK 培养基和 10% 的热灭活自体血浆（1.5 mL），注意不要碰到培养瓶底部，切勿吹打细胞，尽量减少计数、观察等操作，避免影响细胞初期生长。

3. 第 5 天

取样计数，补加新鲜 NK 培养基（可添加 5% 的热灭活自体血浆），建议调整细胞密度 1.0×10^6 cells/mL，

将 T75 瓶中的培养基和细胞转移至 T175 培养瓶。

4. 第 7 天及以后

每隔一天或两天取样计数补液，可以将细胞密度调整至 $0.5-1.0 \times 10^6$ cells/mL，根据细胞悬液体积进行扩瓶或转入细胞培养袋培养，从第 7 天开始，可将补加的新鲜 NK 培养基中的热灭活自体血浆含量降至 1%。

5. 第 14-18 天收获细胞。

6. OptiVibro® NK 细胞扩增基础试剂盒 P01 (NE000-N032) 含有 OptiVibro® NK 细胞无血清基础培养基 P01、OptiVibro® 免疫细胞无血清培养基添加组分 UE01 以及 OptiVibro® 细胞因子 III，可以与本试剂盒配合使用，在 NK 细胞激活后支持更大批量的 NK 细胞扩增需求。

I 其他

1. 如果使用较小体系进行测试，细胞激活的细胞因子使用量可参考如下表格：

规格	细胞因子 I	包被体积	细胞因子 II	接种 PBMC 密度	接种体积
T75	45 μ L	15 mL	150 μ L	$1.5-2.5 \times 10^6$ cells/mL	15 mL
T25	15 μ L	5 mL	50 μ L	$1.5-2.5 \times 10^6$ cells/mL	5 mL
6孔板 (每孔)	6 μ L	2 mL	20 μ L	$1.5-2.5 \times 10^6$ cells/mL	2 mL
12孔板 (每孔)	3 μ L	1 mL	10 μ L	$1.5-2.5 \times 10^6$ cells/mL	1 mL

2. 第 0 天的细胞接种密度可以在 $1.5-2.5 \times 10^6$ cells/mL 范围内，如果是冻存的 PBMC，也可以尝试提前一天复苏，培养箱中过夜静息 (冻存会造成细胞膜损伤，静息有利于细胞恢复)，接种密度可以为 $2.0-3.0 \times 10^6$ cells/mL。静息操作方法：冻存样本细胞复苏后使用含有添加组分的 NK 细胞无血清基础培养基 P01 (不含细胞因子)，以密度 2×10^6 cells/mL 左右悬浮细胞，加入培养瓶中，放入 37°C、5%CO₂ 培养箱中静息过夜，16-18h 即可。

3. 接种密度低于 1.0×10^6 cells/mL 可导致培养失败。
4. 如果从 PBMC 分选 NK 后再开始培养,可适当降低接种密度,推荐接种密度为 $1.0-2.0 \times 10^6$ cells/mL。

| 免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用,实验者未按说明书指导操作,本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任;
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产,不适用于临床诊断和治疗,否则所产生的一切后果,由实验者承担,本公司概不负责。