

LymGro® NK 细胞无血清培养基, 无动物源



源培·培源
BasalMedia

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T521L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基, 无动物源	1L	12 个月	液体	2 ~ 8 °C, 避光	蓝冰

1. 产品描述

LymGro® NK 细胞无血清培养基, 专门设计用于从人外周血、脐带血中外周诱导扩增 NK 细胞。该培养基配方中不含动物源成分, 通过添加相应的细胞因子 (IL-2、IL-15 等) 或与滋养层细胞 (如 K562-mbIL15) 共培养, 可高效快速活化及扩增 NK 细胞。本产品在无血清条件下, 已可以得到较好的效果, 如有需要, 可适当补充自体血浆或 AB 血清, 或可得到更优越的性能表现。

本产品使用注射用水 (Water-For-Injection) 配置。

本产品关注点

含有 (+)

- D-葡萄糖
- L-谷氨酰胺
- L-丙氨酰谷氨酰胺
- 酚红

2. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO 9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观: 红色澄清液体

内毒素: ≤ 1 EU/mL

渗透压: 280 ~ 320 mOsm/kg·H₂O

pH 值: 7.0 ~ 7.4

储藏条件: 2 ~ 8 °C, 避光

运输条件: 蓝冰

4. 使用指南

准备培养基

LymGro® NK 细胞无血清培养基内含 L-谷氨酰胺 (L-Glutamine) 和 L-丙氨酰谷氨酰胺。使用前需加入合适的细胞因子 (加入细胞因子后应立刻使用)。

实验过程中使用的生理盐水均可用不含钙镁离子的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS) 代替。

细胞培养的条件

培养基: LymGro® NK 细胞无血清培养基

细胞种类: 人外周来源、脐带血来源的 NK 细胞。

培养方式: 悬浮培养

培养容器和设备: 培养瓶、培养袋、WAVE 生物反应器和 CO₂ 恒温培养箱

培养条件: 36 ~ 38 °C, CO₂ 含量 4 ~ 6 % 的湿润空气, 避光。

5. 操作步骤

5.1 单个核细胞的分离 (以 30mL 全血起始量为例)

5.1.1 自体血浆提取

将采集的 30mL 全血收集到 50mL 无菌离心管中, 700g 离心 15 min (离心机升速 8, 降速 4), 取上层淡黄色血浆至新的 50mL 离心管中 (下层红色液体用于提取单个核细胞), 于水浴锅中 56°C 灭活 30min, 900g 离心 10min, 取上清, 置于 -20°C, 15min, 再次 900g 离心 10min, 取上清, 置于 4°C 保存。(900g 离心时离心机的升降速均调至最高即可)

5.1.2 单个核细胞的分离

外周血: 取上一步血浆提取后得到的下层红色液体用生理盐水 1:1 稀释, 混匀, 备用。

脐带血: 取上一步血浆提取后得到的下层红色液体用生理盐水 1:2 稀释, 混匀, 备用

(1) 另取 2 支新的 50mL 的离心管, 根据稀释血液的体积, 按照 1:1 的比例将稀释血液缓慢加到密度梯度分离液 (R710JV) 上层, 使二者之间形成清晰的界面;

(2) 2000 rpm/min 离心 20 min 后, 从管底到液面分为 4 层, 依次为红细胞和粒细胞层、密度梯度分离液层、单个核细胞层 (白膜层)、血浆层 (如有)。用吸管将白膜层吸出, 转移至另一支无菌离心管中;

(3) 加 DPBS 至 40 mL, 700g 离心 5 min, 结束后弃上清, 重复此步骤 3 次;

(4) 最后一次离心结束后, 弃上清, 加入 40 mL 的 LymGro™ NK 细胞无血清培养基在推荐的培养条件下培养。同时取少量细胞悬液计数, 需要注意的是, 脐带血单个核细胞计数前应使用红细胞裂解液裂解红细胞。

5.2 NK 细胞培养步骤

5.2.1 根据前述单个核细胞的分离方法, 准备单个核细胞, 最后一次离心去上清之后, 使用少量预热的含有自体血浆及细胞因子的 LymGro® NK 细胞无血清培养基重悬, 进行细胞计数, 然后以 $1 \sim 2 \times 10^6$ 个/ml 活细胞密度接种入上述培养基中;



注意：相关因子包括 IL-2、IL-15 等，浓度根据具体情况调整。

5.2.2 当细胞生长到第 3 天离心换液（700g，5 min）更换新鲜培养基及相关细胞因子；

5.2.3 第 4 ~ 6 每天镜检观察计数，根据细胞悬液颜色添加培养液，每天的添加约为总体积的 1/3-1/2。

5.2.4 当培养液体积大于 150 ml 或细胞数量大于 1.5×10^8 时则需转移至培养袋培养；

5.2.5 第 8 ~ 11 天每天镜检观察计数，根据细胞悬液颜色加培养液。第 12 ~ 14 天观察需加液时，细胞浓度需保持在 2×10^6 cells/ml；

5.2.6 当细胞达到所需剂量时，即可离心收集细胞待用。

5.3 细胞悬液的制备

离心（700g，5 min）收集细胞去上清，使用含 0.5 ~ 1 % 白蛋白的生理盐水洗涤细胞，重复 3 次；最后用少量重悬液重悬细胞，进行细胞计数，再根据需要的细胞密度补充液体到合适体积，配成细胞悬液。

6.相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T110KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基，含 HSA	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T120KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基，含 HSA，不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T150L0	LymGro® OptiT 淋巴细胞无血清培养基	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
T520L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基，不含酚红，无动物源	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
R710JV	样本密度分离液，1.077	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
S110JV	青霉素-链霉素 双抗溶液 100X	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S210JV	L-谷氨酰胺溶液，100X *	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S240JV	L-丙氨酰-谷氨酰胺溶液，100X *	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS)，不含钙、镁离子和酚红	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS)，pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS)，pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

* 100X 代表产品的浓度是工作浓度的 100 倍。

