

OriCell®

细胞产品手册

OriCell® NK-92MI

人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的
自然杀伤细胞系

产品货号：H3-1201



We help you discover life

产品介绍

人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞系（NK-92MI）是转染得到的源自 NK-92 细胞的 IL-2 非依赖的 NK 细胞株，对多种恶性细胞具有细胞毒性的自然杀伤细胞。

NK-92MI 常用于免疫学和癌症的研究；如益艾康含药血清对人 NK-92MI 细胞凋亡及其受体 NKG2A、NKG2D、细胞因子 IFN- γ 表达影响的研究等。

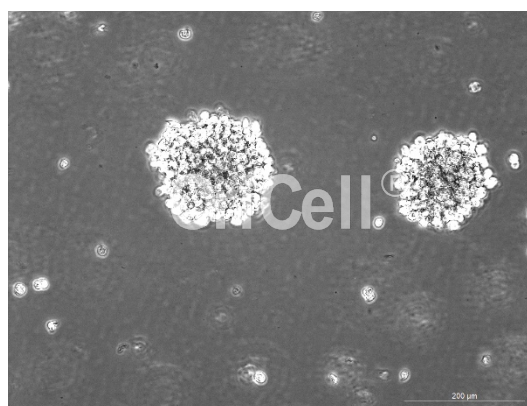
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞系
简称	NK-92MI (NK92-MI、NK92MI、NK-92 mi、NK-92 transfected with MFG-hIL2)
货号	H3-1201
规格	1×10^6 个/管 或 1×10^6 个/瓶
组织来源	人外周血
细胞特性	悬浮生长；淋巴母细胞样
培养条件	95% 空气；5% CO ₂ ；37°C
培养基	MEM α + 12.5% HS + 12.5% FBS + 0.2mM Inositol + 0.1mM β -mercaptoethanol + 0.02mM Folic Acid
倍增时间	36~48 h
生物安全等级	2
保存条件	液氮 (-196°C)

注意：本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

OriCell® NK-92MI 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合悬浮细胞生长的培养容器，不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. 冻存细胞复苏后最开始状态会较差，一般培养 1~2 代后会恢复正常。
5. NK-92MI 属于**悬浮抱团生长**的细胞，细胞复苏和传代时需要保证一定的密度。
6. 细胞培养过程中，培养皿底部会出现颗粒物和细胞碎片，属于正常现象，如若怀疑污染请仔细辨别，不要轻易丢弃细胞。
7. **换液或传代之前切勿直接吹打**，否则极易导致细胞死亡。可以直接将细胞原液吸取至离心管中，离心后去除上清，用新鲜的完全培养基轻柔吹打均匀即可。
8. 细胞传代时，注意传代时机，细胞团不宜过大或过小，当显微镜视野中部分团块**中心区域开始泛黄**时，即可传代。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® NK-92MI 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
 6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
 7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
 8. 细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
- 注意：**请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。
9. 离心后去除上清，加入 3 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
 10. 将一支冻存管 (1×10⁶ 个/管) 的细胞接种到 1 个 6 cm 的培养皿中。
 11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：复苏后第一天，不要对细胞采取任何处理，若要观察细胞状态，最好在短时间内完成，尽量减少晃动。

12. 复苏后第二天，观察细胞状态、密度，根据情况进行换液或传代操作。
13. 细胞恢复正常状态后，每隔 36~48 h 进行传代或更换新鲜的完全培养基。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® NK-92MI 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管
- 两个无菌的 50 mL 离心管

注意：1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；
2) 检查培养基是否浑浊；
3) 瓶身有无裂痕；
4) 瓶口有无培养基渗漏。
如有任何异常情况，请及时与我们联系。

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查是否出现大量死细胞。
4. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，将细胞悬液均分，转移到两个 50 mL 离心管内。
5. 细胞悬液以 $140 \times g$ 离心 5 min。
注意：请以公式 $a = \omega^2 r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega = \pi n / 30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。
6. 吸取至少 2 份 1 mL 离心上清至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。
注意：留样的细胞培养基请放置 4°C 冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。
7. 去除多余上清，在两个 50 mL 离心管内，各加入 1 mL 完全培养基，轻柔吹散细胞沉淀，将两管细胞收集到一起，轻柔混匀。
8. 将细胞按 $(6 \sim 8) \times 10^5$ 个活细胞/mL 接种至适宜的培养容器内。
9. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
10. 第二天观察细胞状态，之后，每隔 36~48 h 进行传代或更换新鲜的完全培养基。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

1. 将完全培养基预热至 37°C。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管。用 PBS 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
3. 收集的所有细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
4. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
5. 将细胞按 $(6\sim 8) \times 10^5$ 个活细胞/mL 接种至适宜的培养容器内, 例: 6 cm 培养皿中, 3 mL 完全培养基 $(1\sim 2) \times 10^6$ 个活细胞。。

注意: 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® NK-92MI 细胞传代比例为 1:2~1:3, 48 h 内生长至可传代汇合度。请根据实际生长情况调整传代比例。

6. 摇匀细胞, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液（货号：NCRC-10001）

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
2. 细胞收集请参考 OriCell® NK-92MI 细胞的传代操作步骤 1~3。
3. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意：在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是冻存的前 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（广州）生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。