

人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞NK-92MI



Cat No.: SC0537

细胞名称	人恶性非霍奇金淋巴瘤患者的自然杀伤细胞NK-92MI	英文名称	NK-92MI
形态特性	淋巴母细胞样	生长特性	悬浮生长
种属	人		
组织	外周血		
培养体系	MEM α + 0.2mM Inositol+0.1mM β -mercaptoethanol+0.02mM Folic Acid+12.5% HS+12.5% FBS +1% P/S 气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。 温度: 37℃		
STR	D5S818: 12, 13 D13S317: 9, 12 D7S820: 10, 11 D16S539: 11, 12 vWA: 16, 18 TH01: 6, 9.3 TPOX: 8 CSF1PO: 11, 12 Amelogenin: X, Y		
简介	NK-92细胞是从一位患有急性非霍奇金淋巴瘤的50岁白人男性外周血单核细胞衍生来的一株IL-2依赖型NK细胞株。NK-92MI细胞是转染得到的源自NK-92细胞的IL-2非依赖的NK细胞株。亲本细胞NK-92通过微粒体基因转化法用逆转录病毒MFG-hIL-2载体携带的人IL-2cDNA进行转化。可能由于载体整合到基因组DNA中, 转化是稳定的。这株细胞对很多恶性细胞有细胞毒性; 铬释放试验显示它能杀死K562细胞和Daudi细胞。NK-92细胞有以下特征: CD2、CD7、CD11a、CD28、CD45、CD54表面标记阳性; CD1、CD3、CD4、CD5、CD8、CD10、CD14、CD16、CD19、CD20、CD23、CD34和HLA-DR表面标记阴性。其亲本IL-2依赖的细胞株NK-92细胞及另一株同样来源于NK-92细胞株的IL-2非依赖的细胞株NK-92CI都可从ATCC得到。NK-92MI细胞和NK-92CI细胞这两个变种都包含、表达并合成hIL-2cDNA。NK-92MI细胞合成的IL-2水平比NK-92CI高, 而亲本细胞不合成表达。1998年9月提交到ATCC的培养物污染了支原体, 其后代通过BM细胞周期蛋白处理21天消除支原体。处理后6周, 用Hoechst染色、PCR和标准培养测试进行支原体检测, 结果都呈阴性。		
传代方法	建议第一次1:2传代		
冻存条件	90 FBS+10% DMSO, 推荐无血清冻存液 (CX001)		
用途	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
备注	该细胞为悬浮细胞, 请注意离心收集细胞悬液, 请勿直接倒掉细胞培养液。		

一、细胞收到后处理

请显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照(10 $\times$, 20 $\times$) 各2-3张以及培养瓶外观照片 一张留存, 作为售后时收到 时细胞状态的依据。

收到细胞回到自己的实验室后, 先打开外包装, 用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内, 严格无菌操作, 不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察: 未超过80%汇合度时, 可将瓶装的完全培养液收集至离心管中, 重新加入6ml完全培养基, 放入37℃、5%CO₂孵箱培养; 超过80%汇合度时, 根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5分钟, 弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中(加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。

(注意发货的是密封培养瓶的话, 处理完后放入培养箱培养记得培养瓶子拧松, 初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2)

二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入6cm皿中)，培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

2. 细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1：弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

2：加1-2ml消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。

3：轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

4：将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

1：收集细胞，1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀，将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

2：较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1：2到1：3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3：细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。