

## 狗脾脏 NK 细胞

一、基本信息	
细胞名称	狗脾脏 NK 细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
种属来源	狗
组织来源	实验动物脾脏
生长特性	悬浮生长
分离方法	通过密度梯度离心获得
细胞简介	<p>自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)是机体重要的免疫细胞, 不仅与抗肿瘤、 抗病毒感染和免疫调节有关, 而且在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生。一种稳定表达在 NK 和 LAK 细胞表面的 LAK-1 分子, 120kDa, NK 细胞在 IL-2 条件下培养 20 天 LAK-1 仍为阳性, 而 HNK-1(CD57) 和 CD16 部分消失。LAK 的杀伤活性可被抗 LAK-1 McAb 所抑制。 自然杀伤细胞刺激因子 (natural killer cell stimulatory factor,NKSF) 对 NK 细胞有刺激作用。IL-2、IL-12、IFN-<math>\alpha</math>、TNF-<math>\alpha</math>以及白细胞调节素(leukoregulin,LR) 对 NK 细胞的活化和分化有正调节作用, 体外培养时加入上述细胞因子可明显提高 NK 的杀伤活性。前列腺素 (PG)E1、E2、D2 和肾上腺皮质激素等对 NK 细胞的活性有抑制作用。</p>
细胞鉴定	经鉴定细胞纯度高于 90%
支原体检测	豚鼠外周血 NK 细胞不含有 HIV-1、 HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌

细胞规格	5x10 <sup>5</sup> cells/T25 或 1mL 冻存管
培养基	豚鼠外周血 NK 细胞专用培养基
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
细胞代数	第 1 代
细胞货期	现货，1 周左右
发货方式	复苏发货（免运输费用）/ 冻存发货（需加干冰运输费用）
供应范围	仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用
特别说明	具体操作步骤以随货产品说明书为主

## 二、细胞培养操作

收货处理	取出 T25 细胞培养瓶，用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态，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 2-4h，以稳定细胞状态
细胞复苏	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 完全培养基，培养过夜）。第三天换液并检查细胞密度。
传代密度	细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1: 2 传代，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
传代方法	<p><b>a</b>、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p><b>b</b>、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.02%EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶</p>

	<p>置于 37°C 培养箱中消化 1 -3min (视细胞消化情况而定) , 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 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p><b>c、</b>将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中, 置于培养箱中培养。</p>
细胞冻存	<p>待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例</p> <p><b>a、</b>收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 进行细胞计数。</p> <p><b>b、</b>根据细胞数量加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>, 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。</p> <p><b>c、</b>将冻存管放入 -80°C 冰箱, 24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>
<b>三、注意事项</b>	
重要提醒	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.培养基于 4°C 条件下可保存 3-6 个月。</li> <li>2.在细胞培养过程中, 请注意保持无菌操作。</li> <li>3.传代培养过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁及其生长状态。</li> <li>4.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。</li> </ol>
到货须知	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.收到细胞后, 首先观察并拍照记录细胞瓶是否完好, 培养液是否有漏液、浑浊等现象, 干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发, 细胞是否解冻, 若有上述现象发生请及时和我们联系。</li> <li>2.静置完成后, 取出细胞培养瓶, 镜检、拍照 (当天以及第 2,3 天请拍照) , 记录细胞状态 (所拍照片将作为后续服务依据); 建议细胞传代培养后, 定期拍照、记录细胞生长状态。</li> <li>3.由于运输的原因, 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。个别敏感细</li> </ol>

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。

4.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。

#### 四、售后服务

##### 细胞予重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

##### 细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。