

NK-MAX 纯化因子

使用说明书

一、产品简介

NK-MAX 纯化因子是应用于新鲜外周血/脐带血（单个核细胞）分离过程中的纯化试剂，主要提高分离后单个核细胞中 CD3-CD56+细胞比例，NK-MAX 纯化因子搭配首宁生物-NK扩增试剂盒（RP03030），可使最终扩增的 NK 细胞纯度极高（CD3- CD56+表达率可高于 95%），且 CD3+细胞小于 1%。

二、产品信息

表 1: NK-MAX 纯化因子产品说明

产品信息	货号	规格	储存条件
NK-MAX 纯化因子	SN-03-0050	0.625 mL	4 °C储存 2-8 °C运输

*NK-MAX 纯化因子在运输和存储过程中可能会有沉淀产生，使用前应吹打混匀后再使用。

三、试剂材料

表 2: 推荐配套试剂&材料

试剂&材料	品牌 (e.g.)	货号 (e.g.)
NK-MAX 纯化因子	首宁生物	SN-03-0050
DPBS	Gibco	C14190500BT

四、NK-MAX 纯化因子应用于单个核细胞制备

4.1 单个核细胞制备：单个核细胞来源一般为外周血和脐带血两种，形式上分为新鲜样本分离和冻存样本复苏，请根据实际情况参考对应操作步骤；

注：

(1) 为了避免抗凝剂占比过高影响自体血浆的使用，应使脐血中的抗凝剂占比低于 30%。

(2) 采血时建议使用肝素钠抗凝的真空采血管，勿用EDTA 抗凝的真空采血管，EDTA 会影响NK 细胞的激活与扩增。对于自体血浆分离后的样本，想要使用NK-MAX 纯化因子，建议分离后的血液细胞密度不应超过 5×10^7 cells/mL。

4.2 新鲜样本分离(外周血和脐带血分离方法类似)

4.2.1 自体血浆分离（可选）：将新鲜血液 $800 \times g$ 离心 25分钟（升降速度调到最慢），离心后吸取上层淡黄色血浆于 50 mL 离心管（剩余血细胞层用于分离单个核细胞），置于 56°C 水浴 30 min 灭活，然后取出 $1200 \times g$ 离心 10 min 去除沉淀，将灭活后的血浆转移至新的 50 mL 离心管，置于 4°C 冰箱保存备用。

4.2.2 NK-MAX 纯化因子使用：量取血样样本至离心管中。按照 $12.5 \mu\text{L}$ （NK-MAX 纯化因子）/mL（自体血浆分离前新鲜血液体积）加入 NK-MAX 纯化因子，使用移液管吹打混合均匀，室温孵育 20分钟。

4.2.3 单个核细胞分离：将 4.2.2 中孵育好的血样样本，用生理盐水 1:1 稀释混匀，加至装有 Ficoll 的离心管中（避免破坏液体分界面）， $900 \times g$ 离心 30 分钟，吸取中间的白膜层至新的离心管中，用细胞洗涤液（DPBS + 2% hPL 或自体血浆）清洗， $400 \times g$ 离心 10分钟，去上清；重复 1-2 次，直至完全去除 Ficoll。沉淀的 PBMC 细胞可取适量准备直接激活培养，也可根据需求进行冻存（不同淋巴细胞分离液根据相应说明书操作）。提取完成的单个核细胞，可进行后续 NK 激活扩增，具体扩增方案请参考 NK 扩增试剂盒（RP03030）说明书。

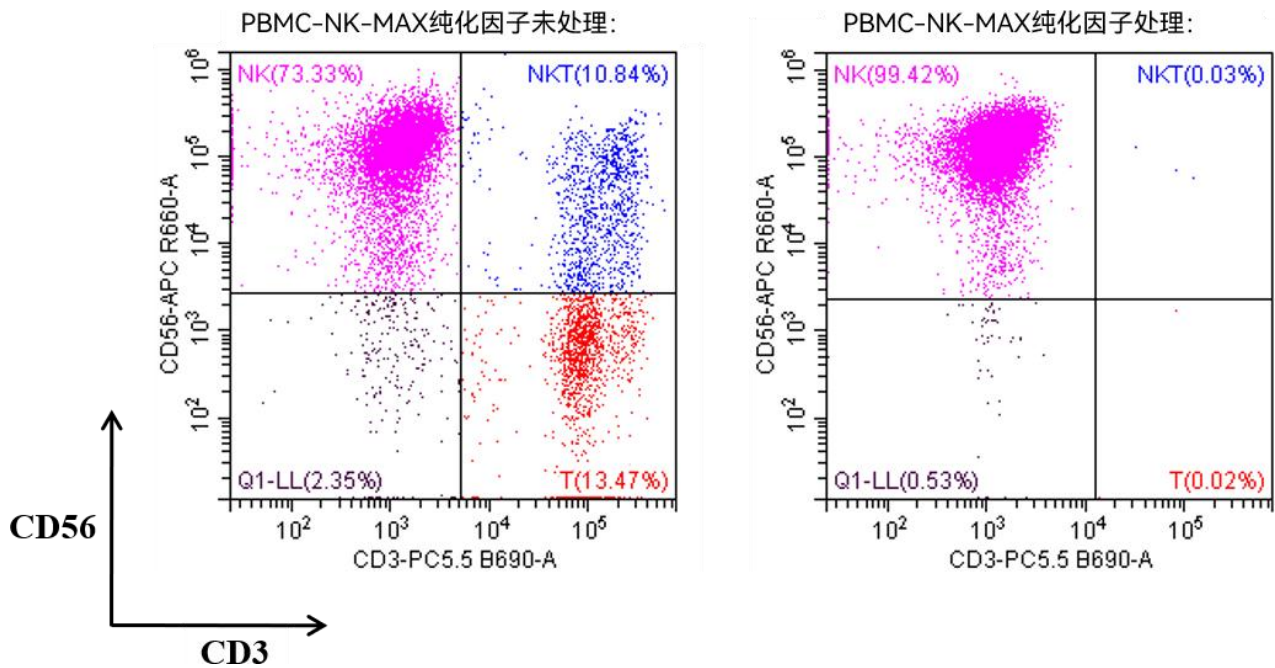


图 1: 外周血 (PBMC) - NK-MAX 纯化因子处理和未处理组的 NK 纯度对比

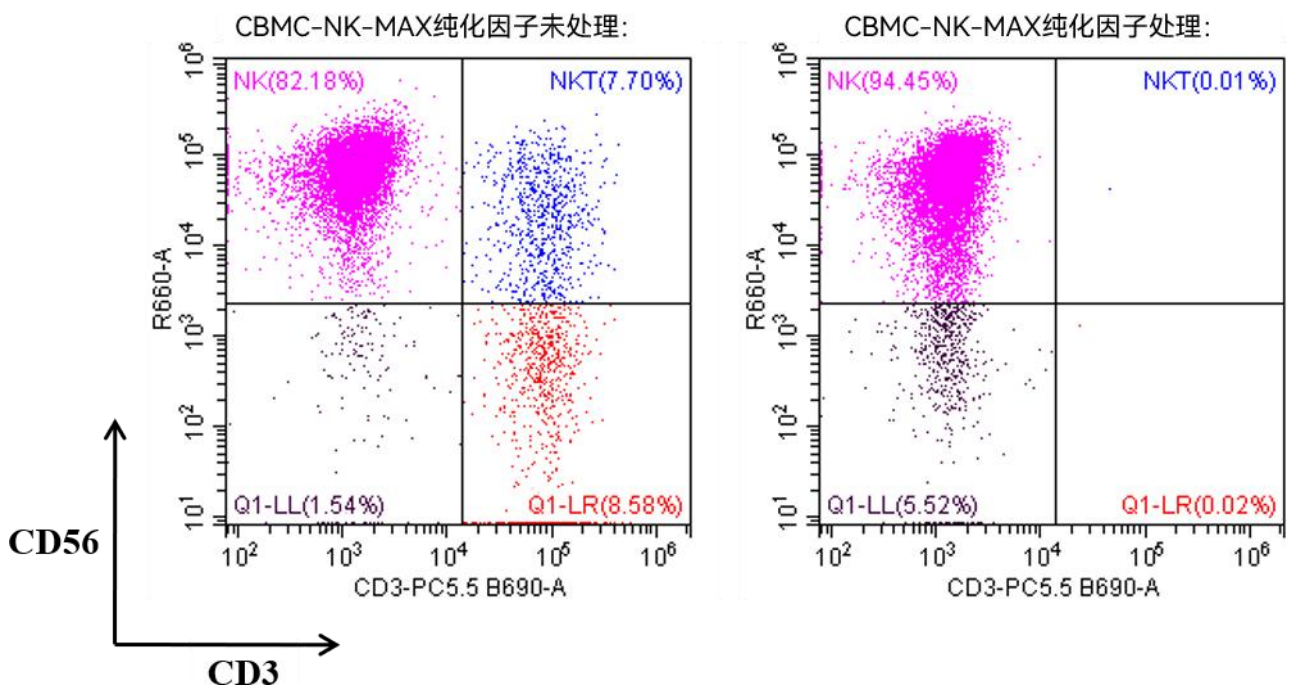


图 2: 脐血 (CBMC) - NK-MAX 纯化因子处理和未处理组的 NK 纯度对比