NK-MAX 纯化因子-使用说明

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**	**0.625mL**	**4℃储存 2-8℃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。

（3）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 $5x10^7$ 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×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 50mL 离心管（剩余血细胞层用于分离单个核细胞），置于 56℃水浴 30min 灭活，然后取出 1200×g 离心 10min 去除沉淀，将灭活后的血浆转移至新的 50mL 离心管，置于 4℃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 **12.5μL（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×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×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。

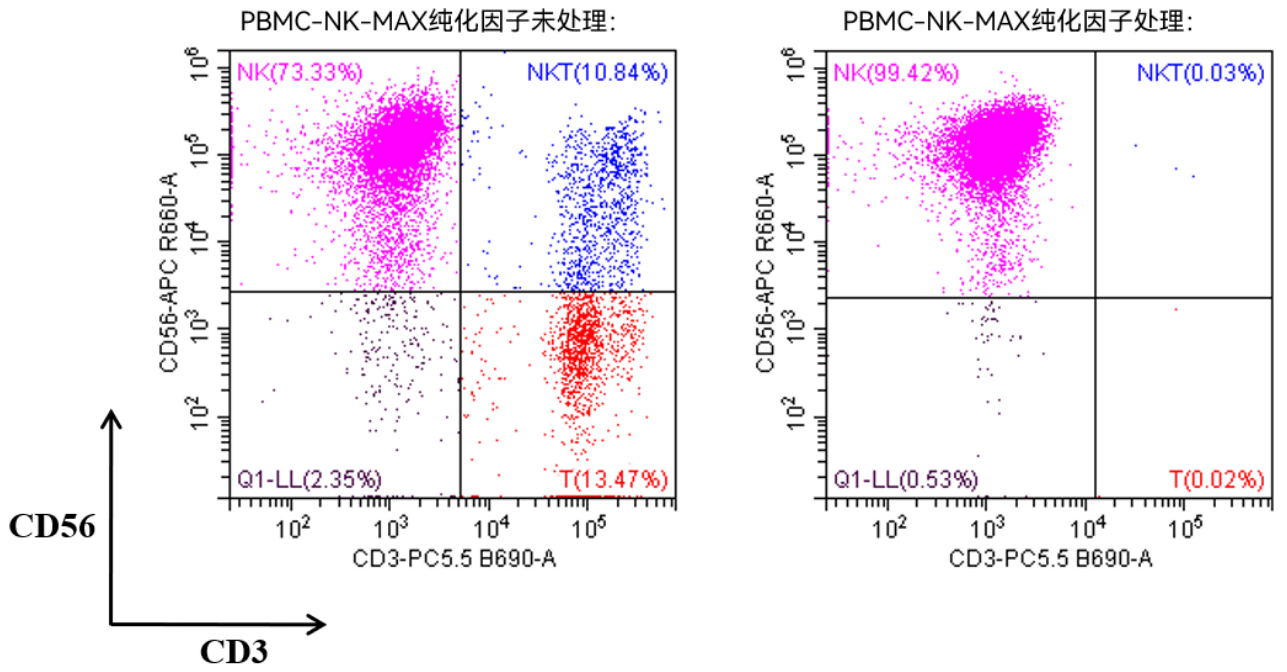

图 1：外周血（PBMC）- NK-MAX 纯化因子处理和未处理组的 NK 纯度对比

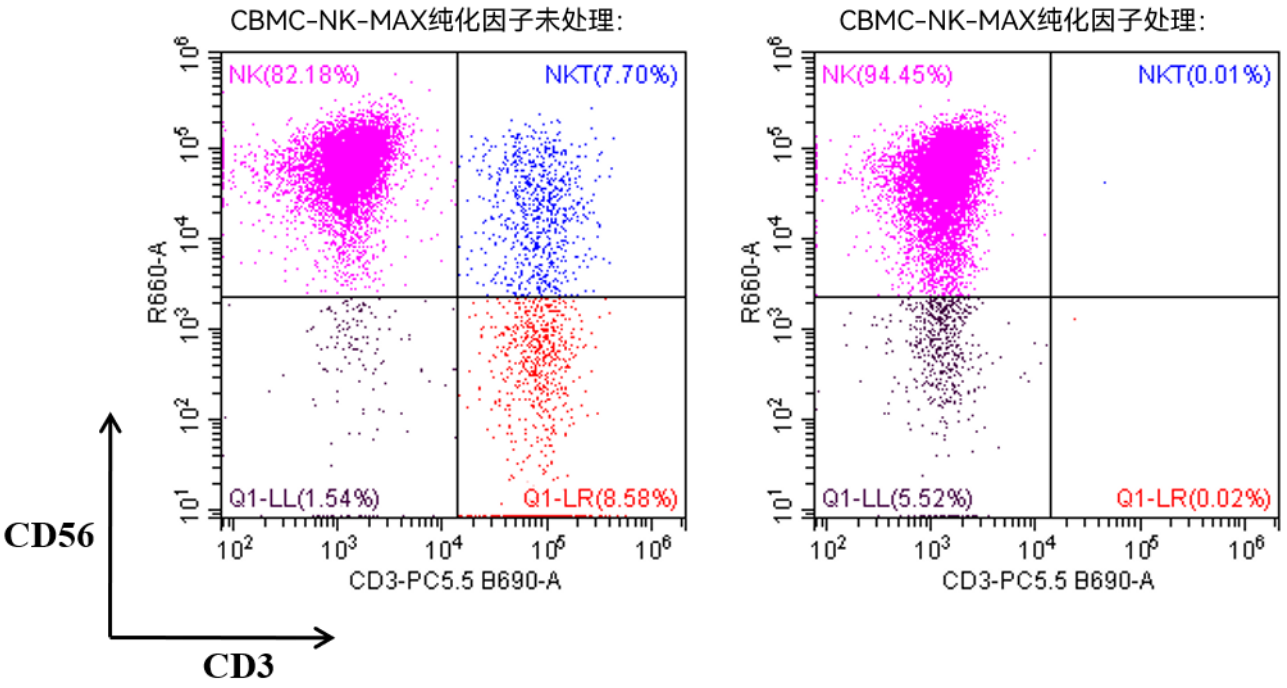

图 2：脐血（CBMC）- NK-MAX 纯化因子处理和未处理组的 NK 纯度对比