

shownin®NK-MAX 纯化因子-使用说明

一、产品简介

shownin®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: shownin® NK-MAX 纯化因子产品说明

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

shownin®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.)
shownin®NK-MAX 纯化因子	首宁生物	SN-03-0050
DPBS	Gibco	C14190500BT

四、shownin®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 shownin®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 50mL 离心管 (剩余血细胞层用于分离单个核细胞)，置于 56°C 水浴 30min 灭活，然后取出 $1200 \times g$ 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°C 冰箱保存备用。

4.2.2 shownin®NK-MAX 纯化因子使用: 量取血样样本至离心管中。按照 **12.5 μL** (shownin®NK-MAX 纯化因子) /mL (自体血浆分离前新鲜血液体积) 加入 shownin®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。

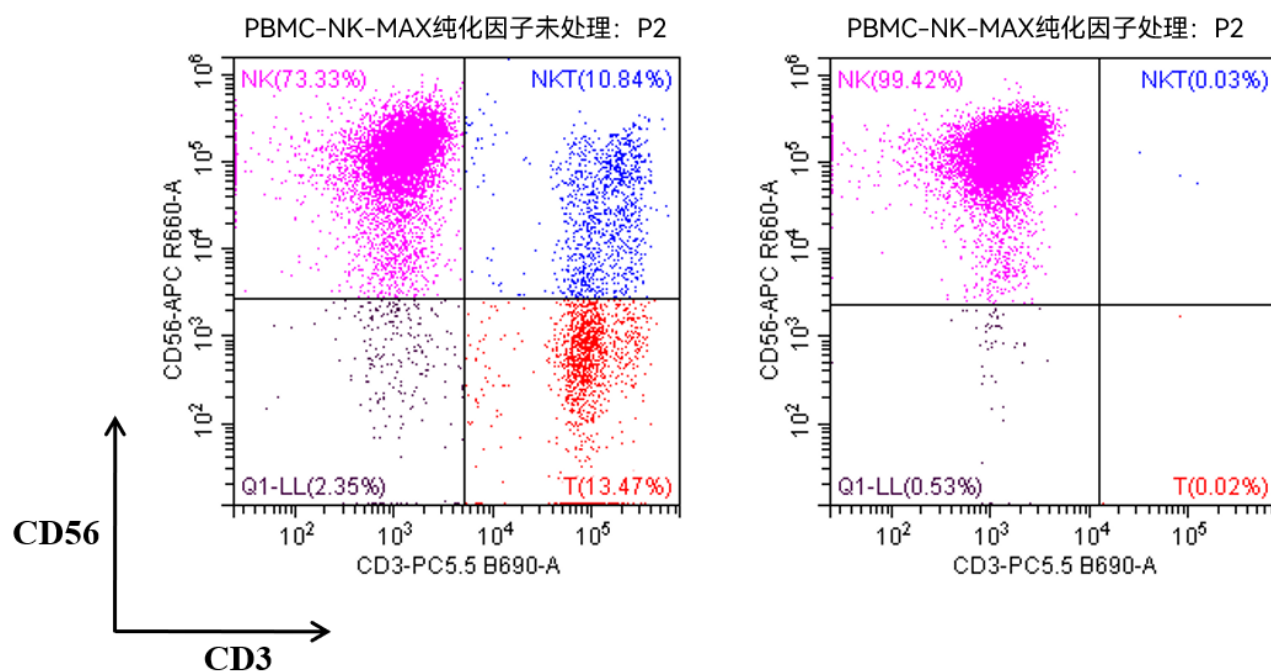


图 1: 外周血 (PBMC) - shownin®NK-MAX 纯化因子处理前后扩增的 NK 纯度对比

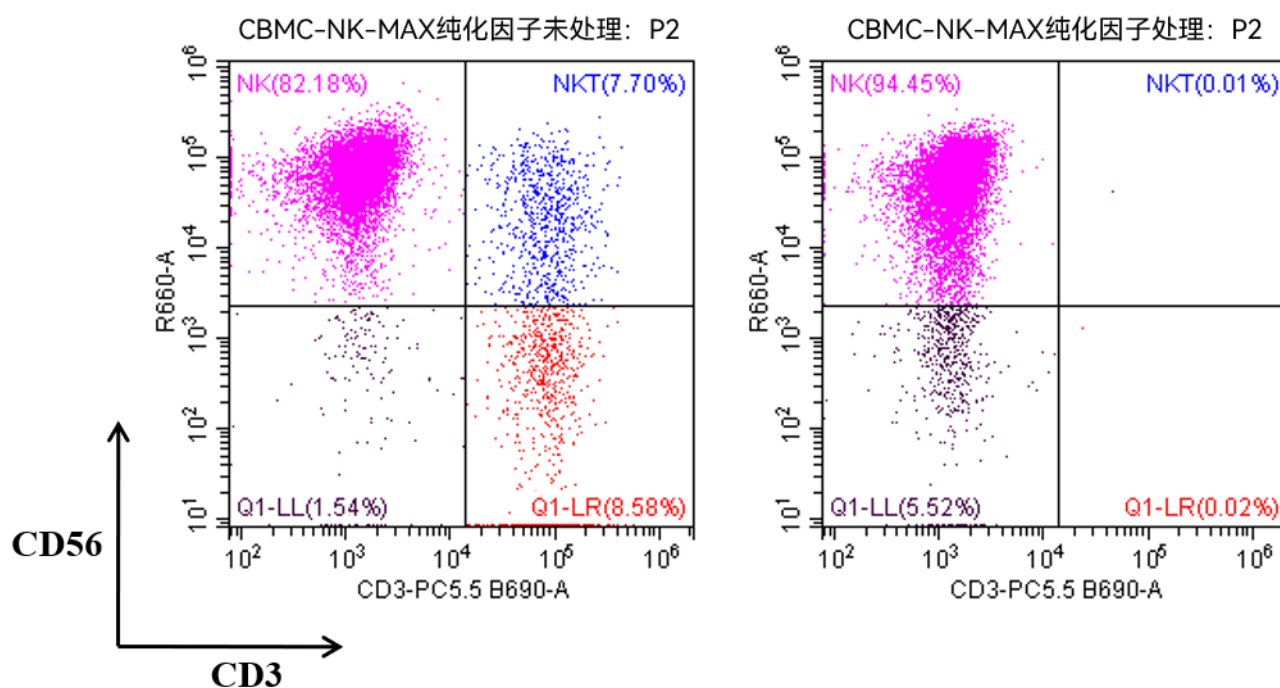


图 2: 脐血 (CBMC) - shownin®NK-MAX 纯化因子处理前后扩增的 NK 纯度对比