

# 狗外周血 NK 细胞

## 细胞基本信息

细胞名称	<b>狗外周血 NK 细胞</b>
细胞品牌	<b>金少源生物</b>
种属来源	狗
组织来源	外周血
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	狗外周血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	狗外周血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°C
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
------	------------------

## 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°C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°C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	a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。 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。 c、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。
细胞冻存	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例 a、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。 b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL，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。 c、将冻存管放入-80°C冰箱，24 h 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

## 注意事项

重要提醒	1.培养基于 4°C条件下可保存 3-6 个月。 2.在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。 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。 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。
到货须知	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。 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。 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

	<p>技术人员跟踪回访直至问题解决。</p> <p>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。</p>
--	---

## 售后服务

### 细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，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。

### 细胞不予重发

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。

**备注:**

金少源生物客户在细胞培养过程中,有任何技术问题可以拨打免费服务电话 4008-723-722,

我们随时给予实验中的解答。