

## CIK 细胞高效扩增试剂盒使用说明书

## CIK Cell Robust Expansion Kit

(货号: 662070)

## 1. 产品介绍

- 1.1 本产品是一款 CIK 细胞高效扩增的试剂盒。外周血/脐带血中的 PBMC 细胞经本试剂盒处理后，在 14-16 天时间内，细胞总数可达到  $6 \times 10^9$ - $8 \times 10^9$ ，细胞存活率 95% 以上，扩增倍数在 500-1000 倍，CIK 细胞比例最高可达 90% 以上。
- 1.2 本试剂盒适用于人外周血/脐带血和经过血细胞单采仪处理获得的白细胞等来源的样品。
- 1.3 本试剂盒是在符合相关规范的无菌环境中生产，并已通过了严格的细菌、真菌、支原体、病毒（HIV、HAV、HBV、HCV）、内毒素检测。本试剂盒不含血浆、动物源成分以及其它不明确成份。

## 2. 材料和设备

## 2.1 试剂盒套装组成

套装内容	数量	单位	保存条件	产品性状
CIK Cell Culture Medium (662071)	2	瓶	2-8℃	液体
CIK-A (662072)	1	支	-20℃	液体
CIK-B (662073)	1	支	-20℃	液体
CIK-C (662074)	2	支	-20℃	冻干粉

## 2.2 用户需要自行准备的试剂耗材

0.4% 萘酚蓝溶液、生理盐水、人淋巴细胞分离液、肝素钠采血管/100ml 采血袋、PBS、75cm<sup>2</sup> 悬浮培养瓶、175cm<sup>2</sup> 培养瓶、细胞培养袋、15mL/50mL/250mL 离心管、移液管、5mL 和 50mL 无菌注射器等。

## 3. 样本采集及运输要求

- 3.1 外周血样本采集应为肝素钠采血管，脐带血优先选择 100ml 采血袋，采集过程应严格规范无菌。实际采血总量应大于 50ml，采集后血液与抗凝剂应及时混匀。
- 3.2 样本运输条件为 18-25℃，24 小时处理样本。

## 4. PBMC 的分离和血浆制备（以 50ml 样本 THERMO ST16 离心机为例）

- 3.3 将 50ml 血液样本均分至 2 个 50ml 离心管，3000rpm，10min，取上层血浆转移至新的离心管，

56℃, 30min 灭活, 4℃ 静置 10min, 3000rpm, 10min, 用吸管将上清液转移至新的离心管中, -20℃ 保存, 使用前取出;

- 3.4 剩下细胞加入生理盐水至原体积, 充分混合均匀, 转移至 2 个装有 15ml 淋巴细胞分离液的 50ml 离心管中, 室温下 1800rpm, 30min;
- 3.5 取出 PBMC 至新的 50ml 离心管; 加入生理盐水至 45ml, 1600rpm, 8min;
- 3.6 去上清, 加入生理盐水至 45ml, 充分混匀, 取样计数;
- 3.7 1400rpm, 10min 收集 PBMC。

## 5. 培养基使用说明:

单独取 40ml 培养基用于第一次接种, 后每瓶培养基 {CIK Cell Culture Medium (662071)} 加入一支 CIK-C (662074), 混匀, 使用前恢复至室温。

## 6. 细胞接种

- 6.1 取 40ml 培养基 (不加 CIK-C) 加入 CIK-A (662072) 和 5ml 自体血浆混匀待用。
- 6.2 用混匀后的培养基重悬已经收集好的单个核细胞, 细胞密度应大于  $1.5 \times 10^6$  cell/ml;
- 6.3 转移混匀后的细胞悬液至悬浮细胞培养瓶, 在缓慢平放于培养箱中培养。
- 6.4 24 小时加入一支 CIK-B (662073), 混匀。

## 7. 补液

- 6.5 D3 (72h), 镜下观察有较多克隆团出现, 即可补液, 如有大量较大的克隆团, 可适当打散 (下同), 转移细胞至 T175 培养瓶中, 补加 40ml 已配置培养基, 5ml 自体血浆混匀;
- 6.6 D5, 补加 100ml 已配置培养基, 自体血浆 10ml, 混匀;
- 6.7 D7, 补加 200ml 已配置培养基和 10ml 自体血浆, 混匀;
- 6.8 D9, 往细胞培养袋补加 400ml 已配置培养基和 10ml 自体血浆, 混匀, 均分于 2 个细胞培养袋; 自体血浆如用完可不添加或用细胞营养添加物替代 (下同);
- 6.9 D11, 往细胞培养袋补加 800ml 已配置培养基和 10ml 自体血浆, 混匀, 均分于 2 个细胞培养袋;
- 6.10 D13, 往细胞培养袋补加所有剩余已配置培养基和 10ml 自体血浆, 混匀, 均分于 2 个细胞培养袋;

## 8. 收获

D15 收获 CIK 细胞, 可根据实验情况, 适当提前或延迟。