

# 产品说明书

---

复苏型脐带血 CIK 细胞培养试剂盒-3L 体系

货号: GD-F3

**细胞产业关键共性技术国家工程研究中心**

网址: [WWW.NCGT.ORG.CN](http://WWW.NCGT.ORG.CN)

邮箱: [INFO@NCGT.ORG.CN](mailto:INFO@NCGT.ORG.CN)

电话: (0755)86548809

地址: 广东省深圳市南山区学苑大道 1001 号南山智园二期 D3 栋 7、8 层

---

## 产品描述

由细胞产业关键共性技术国家工程研究中心精心开发的复苏型脐带血 CIK 细胞培养试剂盒，包括了激活、诱导和扩增需要的细胞因子和必要的培养基、培养添加物。

本产品可刺激通过人淋巴细胞分离液（Ficoll）分离获得的脐带血单个核细胞经过复苏后诱导分化为细胞因子诱导的杀伤细胞（CIK 细胞）。

本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭以及其他用途。

## 试剂盒组成

| 序号 | 试剂名称             | 数量  |
|----|------------------|-----|
| 1  | FCIK-1           | 1 支 |
| 2  | FCIK-2           | 1 支 |
| 3  | FCIK-3           | 3 支 |
| 4  | FCIK-SR          | 1 瓶 |
| 备注 | 配套 ET 培养基（3 瓶）使用 |     |

## 使用说明

- 所有工作必须在无菌环境中进行，请遵守严格无菌的工作规范，使用无菌耗材。

### 诱导用培养基的配制

1. 使用前，请将 FCIK-2 置于室温环境解冻至因子完全溶解，轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。
2. 用 75%乙醇擦拭所有试剂管/瓶的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
3. 在洁净工作台中吸取 140mL 的 ET 培养基。
4. 无菌吸取 1 支 FCIK-2 加入 140mL 的 ET 培养基中，尽可能的将所有试剂完全吸取。
5. 轻晃配制好的诱导用培养基，确保混合均匀之后即可使用。

- 
6. 配制完成的培养基于 2-8°C 保存。

## 扩增用培养基配制

1. 使用前，请将 FCIK-3 置于室温环境解冻至因子完全溶解，轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。
2. 用 75%乙醇擦拭所有试剂管/瓶的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
3. 无菌吸取 FCIK-3 加入培养基中，尽可能的将所有试剂完全吸取。
4. 每 800~1000mL 的 ET 培养基加入 1 支 FCIK-3。
5. 轻晃配制好的扩增用 ET 培养基，确保混合均匀之后即可使用。
6. 配制完成的培养基于 2-8°C 保存。

## 操作规程

### 实验材料

1. 复苏型脐带血 CIK 细胞培养试剂盒（货号：GD-F3）；
2. ET 培养基（货号：GD-C4）；
3. 细胞培养瓶（175cm<sup>2</sup>）；
4. 细胞培养袋；
5. 离心管（50mL、250 mL）；
6. 一次性注射器（60mL）；
7. 人淋巴细胞分离液（Ficoll）；
8. 0.9%氯化钠注射液。

### 操作方法

1. 细胞接种（第 0 天）
  - a) 复苏后的单个核细胞经过洗涤后，用 20mL 诱导培养基重悬，取样计数后将细胞悬液全部加入到细胞培养瓶中，再加入 1 支 FCIK-1 和 3mL FCIK-

---

SR。

- b) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
2. 培养瓶加液 (第 2 天)
  - a) 往培养瓶中加入 20mL 诱导用培养基和 3mL FCIK-SR。
  - b) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
3. 培养瓶加液 (第 4 天)
  - a) 往培养瓶中加入 40mL 诱导诱导用培养基和 6mL FCIK-SR。
  - b) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
4. 培养瓶加液 (第 6 天)
  - a) 往培养瓶中加入 60mL 诱导诱导用培养基和剩下 13mL FCIK-SR。
  - b) 轻柔摇匀, 放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱。
5. 扩瓶培养 (第 8 天)
  - a) 将细胞悬液均分 2 份, 转移至 2 个细胞培养瓶中。
  - b) 分别往每个细胞培养瓶加入扩增用培养基约 120mL, 混匀, 加入后每个细胞培养瓶内细胞悬液体积约 200mL, **总体系 400mL**。
  - c) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱。
6. 转入细胞培养袋 (第 11 天)
  - a) 转袋操作前请先取样计数, 如细胞密度低于 0.5\*10<sup>6</sup>/mL 需延迟转袋。
  - b) 将所有细胞平均转移至 2 个细胞培养袋中。
  - c) 分别往 2 个细胞培养袋内各加入 200mL 扩增用培养基。
  - d) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
7. 培养袋补液 (第 14 天)
  - a) 分别往 2 个培养袋内各加入 400mL 扩增用培养基。
  - b) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
8. 培养袋补液 (第 17 天)
  - a) 分别往 2 个培养袋内各加入 700mL 扩增用培养基。
  - b) 轻柔摇匀后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

---

## 9. 细胞收集

- a) 将培养袋内细胞培养基全部收集至 250mL 离心管内，取样计数。
- b) 室温离心 500g，8min。
- c) 吸出上清液后用 0.9%氯化钠注射液将所有细胞重悬并收集到 2 个 250mL 离心管中，分别定容至 200mL。
- d) 室温离心 500g，8min。
- e) 小心吸出上清液，用 0.9%氯化钠注射液将所有细胞重悬并收集到 2 个 50mL 离心管中并分别定容至 50mL。
- f) 室温离心 300g，8min。
- g) 弃去上清，按照预期用途使用适合的液体重悬保存细胞，取样计数。

## 注意事项

1. 转袋操作前取样计数，如细胞密度低于  $0.5 \times 10^6/\text{mL}$  时推荐延迟 1-2 天进行操作。
2. 第 14 天及以后的补液建议在操作前取样计数，如细胞密度低于  $2 \times 10^6/\text{mL}$  时推荐延迟 1-2 天进行操作。
3. 收集的 CIK 细胞如需冻存，推荐使用无血清细胞冻存液（货号 GD-D1）。
4. 试剂盒内因子请在  $-20^{\circ}\text{C}$  及以下温度保存，有效期 1 年。
5. 试剂盒内因子请在有效期内使用。
6. 本说明书会随着研究的进步持续更新，最新的说明书请从“细胞产业关键共性技术国家工程研究中心”官网下载。