

康宁 KBM581 培养基 CIK 培养方案

用于 CIK 无血清培养和扩增

CORNING

产品概述

KBM500 系列培养基是过继性免疫细胞治疗中最广泛使用的配方，KBM581 培养基是该系列中最新研发出来的产品。KBM581 培养基是由精选的高质量试剂和 GMP 级原料制成，除了注射级别的血清白蛋白外，该培养基不含其它蛋白质。优化 KBM581 培养基是为了实现人周边血液 T 细胞的无血清培养。KBM581 培养基不含白细胞介素-2 (IL-2)，使用前，要在培养基中加入适当浓度的 IL-2。

产品内容和储存

产品描述	规格	包装	保质期
Corning KBM581 用培养基	1000 mL	1 瓶	12 个月

需要（或建议）添加的关键试剂

- 淋巴细胞分离液，（Corning Cat. No. 25-072-CI）
- IL-2，（Corning Cat. No. 354043）
- CD3，（OKT3，Kohjin）
- γ -干扰素（IFN- γ ），（Peprotech, Cat. No. 300-02）
- 磷酸盐缓冲液，（Corning Cat. No. 21-031-CV）

CIK 细胞培养和扩增

1. 第 0 天：按照康宁公司的标准实验操作步骤，用淋巴细胞分离液（LSM）从全血中分离出外周血单核细胞（PBMC）。注：血样采集后的两小时内进行分离，效果更好。

2. 吸出淋巴细胞层，转移至新的离心管中，用约 3 倍体积的平衡盐缓冲液稀释。室温下，在不损伤细胞的条件下，高转速（如 160-260g 或者 2000 rpm）离心 10 分钟。清洗细胞，从而去除 LSM 和减少血小板的量。

3. 再次用平衡盐缓冲液清洗细胞，室温 160-260g 离心 10 分钟。然后在 KBM581 中重悬细胞，并加入 IFN- γ （1000 IU/mL）至细胞终浓度为 $2\sim 3 \times 10^6$ 个/mL。之后将细胞置空气 CO₂ 含量为 5% 的湿润环境中，37°C 培养 24 小时。

4. 第 1 天：向培养基中增补 IL-2(300 IU/mL)和抗 CD3 抗体（50 ng/mL），置于空气 CO₂ 含量为 5% 的湿润环境中 37°C 培养。

5. 第 5 天及 5 天后：根据细胞的生长情况，每隔一天用含有 IL-2（300 IU/mL）的新鲜培养基，将悬浮培养细胞稀释到浓度为 $1\sim 2 \times 10^6$ 个/mL。

6. 如果需要扩大培养规模，可将细胞悬浮培养体系转至体积更大的培养瓶或可透气的悬浮细胞培养袋中培养。

7. 根据目标细胞的数量，在第 14 到 21 日间获取细胞。