



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

NK92MI-GFP+EGFRvIII·CAR(CD28·ζ) 单克隆株说明书

一、基本信息

英文名称	NK92MI-GFP+EGFRvIII·CAR monoclonal stable cell line
中文名称	GFP&EGFRvIII·CAR 过表达 NK92MI 单克隆株
产品货号	VGC-0011-017S
稳转基因	融合名称: anti-EGFRvIII scFv·hCD28·hCD3ζ 融合序列: N/A
荧光蛋白	copGFP
细胞株抗性	该细胞株不携带任何抗性。
细胞株类型	混合稳转 (X) ; 单克隆 (✓)
细胞形态	淋巴母细胞样, 悬浮聚团生长
细胞规格	1 × 10 ⁶ 细胞冻存细胞或 T12.5 细胞瓶细胞
完全培养基	NK-92 细胞专用培养基 (VGM-0904-0500)
培养条件	(1) 气相: 95 % 空气, 5 % CO ₂ ; (2) 温度: 37 °C
传代方法	建议 1: 2 ~ 1: 3 传代, 每 2 ~ 3 天传代或换液 1 次。
细胞冻存	NK-92MI 细胞专用冻存液 (VGA-0048-0100); - 80 °C 短期保存, 液氮长期保存。
运输条件	活细胞常温运输或冻存细胞干冰运输。
备注信息	该细胞株不携带任何抗性。



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

二、细胞到货处理

1、常温到货细胞

1.1 T25 细胞培养瓶寄送活细胞（细胞处于培养液中）的处理方法：

- a) 观察细胞培养瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象。若有，请拍照，并及时与技术支持联系。
- b) 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。若因运输问题，部分贴壁细胞从瓶壁脱落,先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2~4 小时，以便稳定细胞状态。
- c) 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- d) 仅留适量细胞培养液（弃去多余），然后将细胞置于 37 °C，5 % CO₂ 培养箱培养。
- e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

1.2 冻存管寄送活细胞（细胞处于全血清中）的处理方法：

- a) 用 75%酒精彻底消毒细胞冻存管，然后在超净工作台将细胞悬液转移至 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。
- b) 弃血清，用完全培养基重悬细胞沉淀。
- c) 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 °C，5 % CO₂ 培养箱培养。
- d) 次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

2、干冰运输细胞

- a) 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 °C 水浴，轻轻转动冻存管，直至管内细胞完全融化（最好在 1~2 min 内解冻）。
- b) 将冻存管转移到超净工作台，用 75 %酒精彻底消毒冻存管。



www.vigenbio.com



Technical Support



维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

- c) 将解冻细胞转移到 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。
- d) 弃细胞冻存液，用完全培养基重悬细胞沉淀。
- e) 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 °C，5 % CO₂ 培养箱培养。次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- f) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

三、细胞培养

1、细胞复苏

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37 °C 水浴中快速摇晃至溶解，然后在超净工作台将细胞转移至 15 mL 无菌离心管，加入 4 mL 培养基或无菌 PBS 混合均匀，室温，500 g，离心 5 min，弃上清液，用完全培养基重悬细胞，将细胞移入培养瓶或培养皿培养，第二天更换培养液并检查细胞生长情况。

2、细胞传代

2.1 贴壁细胞传代：当细胞密度约 80 % 时，可进行传代培养：

a) 吸出原培养皿中的培养基，PBS 缓冲液润洗细胞两次，加 2~3 mL 0.25 % 胰酶进行消化（注意根据实际情况，把握消化时间）。

b) 镜下观察消化情况，在细胞边缘缩小，贴壁松动时（可用吸管吸起些许胰酶轻轻敲打细胞层某处，即可肉眼可见细胞层脱落，或吹打后镜下观察吹打处，即消化完成，否则继续消化），加 3~4 mL 完全培养基，轻轻敲打细胞层，把细胞层吹落，吹散，随后将混合液转移至 15 mL 离心管中，离心 5 min，弃上清液，用 PBS 重悬细胞。再次离心 5 min，弃上清液，用完全培养基重悬细胞。

c) 取部分细胞悬液转移至新的培养皿中，添加适当的完全培养基，把细胞悬液打匀，于 37 °C 培养箱中培养。

2.2 悬浮细胞传代：当细胞密度约 80 % 时，可进行传代培养：



www.vigenbio.com



Technical Support

a) 直接将原培养液和细胞一起转移至 15 mL 或 50 mL 无菌离心管，400 ~ 500 g 室温离心 5 min，弃上清液，用 PBS 重悬细胞。再次离心 5 min，弃上清液，用新鲜完全培养基重悬细胞。

b) 根据细胞生长特性，按合适比例传代细胞，将细胞悬液转移至新的培养皿或培养瓶，将细胞置于 37 °C 培养箱中培养。

3、细胞冻存

收集细胞，500 g，离心 5 min，弃上清液，加入无血清冻存液（VGA-0046-0100）轻轻悬浮细胞，移入冻存管后进行冻存。

四、使用须知

- a) 本产品仅供购买方单方使用，不得向任何第三方赠送、转让或销售；
- b) 本产品仅供实验室和体外研究使用，不能用于任何临床检验、诊断、治疗，或任何非法用途；
- c) 收货 48 h 内如若发现异常，请及时联系售后，逾期视为收货良好；
- d) 请严格按照本说明书操作，否则造成细胞失活等情形，不予提供补发服务。

五、细胞株质检

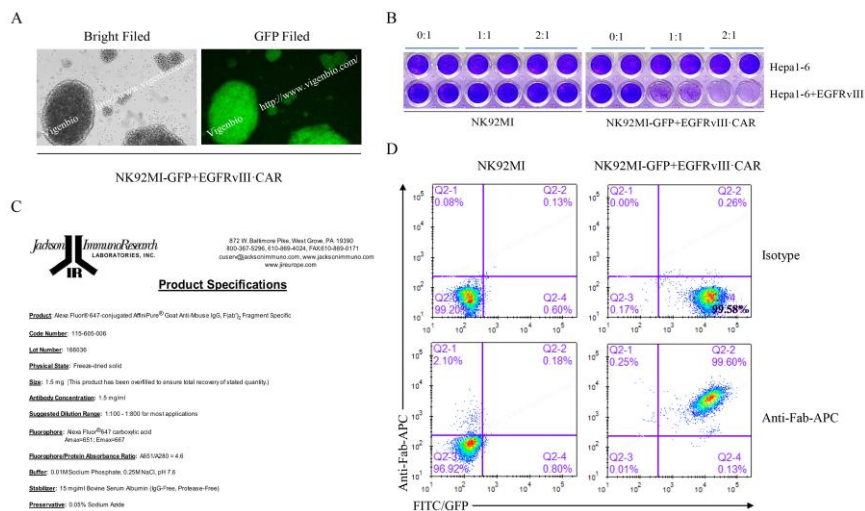


Fig.1. NK92MI-GFP+EGFRvIII-CAR 单克隆株 COA

A、GFP 表达检测的荧光显微镜图；B、结晶紫染色检测 NK92MI-GFP+EGFRvIII-CAR 对 EGFRvIII 过表达 Hepa1-6 细胞株的杀伤作用；C、FACS 检测抗体信息；D、FACS 检测细胞株 GFP 和 Fab 表达。

