

NK-MAX 精製因子

目次 # SN-03-0050 0.625mL

製品概要

NK-MAX 精製因子は、新鮮な末梢血/臍帯血（単核細胞）の分離プロセスに使用される精製試薬であり、分離後の単核細胞中の CD3-CD56+細胞の比率を向上させます。Shownin の NK 増幅キット（RP03030）と併用することで、最終的に増殖した NK 細胞の純度が非常に高くなり（CD3-CD56+の発現率が 95% を超えることは可能）、また CD3+細胞が 1% 未満となります。

製品情報

表 1：NK-MAX 精製因子 製品説明

製品情報	品番	規格	保存条件
NK-MAX 精製因子	SN-03-0050	0.625mL	4 °Cで保存 2-8 °Cで輸送

NK-MAX 精製因子は、輸送または保存中に沈殿が生じる場合があります。使用前にはピペットティングにより十分に混和してください。

試薬と材料

表 2：推奨関連試薬&材料

試薬&材料	ブランド (e.g.)	品番 (e.g.)
NK-MAX 精製因子	Shownin	SN-03-0050
DPBS	Gibco	C14190500BT

NK-MAX 精製因子を用いた単核細胞の調製

1. **単核細胞の調製**：単核細胞の供給源は一般的に末梢血と臍帯血の 2 種類であり、処理形態として「新鮮サンプルからの分離」と「凍結サンプルの解凍」に分けられます。実際の状況に応じて対応する操作手順を参照してください。

注：

(1) 抗凝固剤の割合が高すぎると自己血漿の使用に影響するため、臍帯血中の抗凝固剤の割合を 30% 未満に保ってください。

(2) EDTA は NK 細胞の活性化と増殖に影響するため、採血時はヘパリンナトリウムで抗凝固処理した真空採血管を推奨し、EDTA で抗凝固処理した真空採血管は使用しないでください。

(3) 自己血漿分離後のサンプルに NK-MAX 精製因子を使用する場合、分離後の血液細胞密度は 5×10^7 cells/mL を超えないようにしてください。

2. **新鮮サンプルからの分離(末梢血と臍帯血の分離方法は類似)**

2.1. **自己血漿分離（オプション）**：新鮮血液を $800 \times g$ で 25 分間遠心します（昇降速度は最遅に設定）。遠心後、上層の淡黄色血漿を吸引し 50mL 遠心管に入れ（残りの血球層は単核細胞分離に使用）、 56°C ウォーターバスで 30 分間不活化処理した後、 $1200 \times g$ で 10 分間遠心し沈殿を除去します。不活化血漿を新しい 50mL 遠心管に移し、 4°C 冷蔵庫で保存します。

2.2. **NK-MAX 精製因子の使用**：血サンプルを一定の量で遠心管に入れる。 $12.5 \mu\text{L}$ (NK-MAX 精製因子) /mL (自己血漿分離前の新鮮血液体積) で NK-MAX 精製因子を添加します。ピペッティングで均一に混和後、室温で 20 分間インキュベートします。

2.3. **単核細胞分離**：2.2でインキュベート済み血サンプルを生理食塩水で 1:1 に希釀し、均一に混和した後、Ficoll 液を入れた遠心管に加えます（液体界面を乱さないよう注意）。 $900 \times g$ で 30 分間遠心し、中間の白膜層を新しい遠心管に分取します。細胞洗浄液 (DPBS+2% hPL または自己血漿) で洗浄し、 $400 \times g$ で 10 分間遠心後、上清を除去します。この洗浄操作を 1-2 回繰り返し、Ficoll を完全に除去します。沈殿した PBMC は、適量を直接活性化培養に使用するか、必要に応じて凍結保存します（リンパ球分離液の種類によって、対応する製品説明書に従って操作してください）。分離完了した単核細胞は、後の NK 活性化増殖に使用可能です。具体的な増殖方法について

はNK増幅キット（RP03030）の取扱説明書を参照してください。

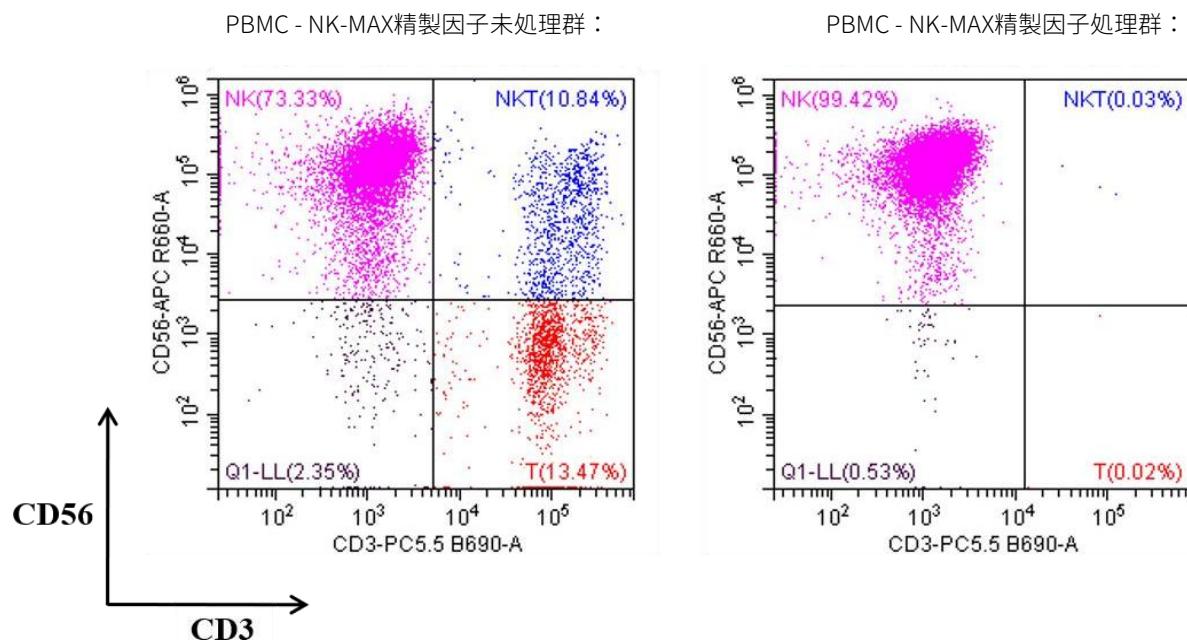


図1：末梢血（PBMC） - NK-MAX精製因子処理群と未処理群におけるNK細胞純度の比較

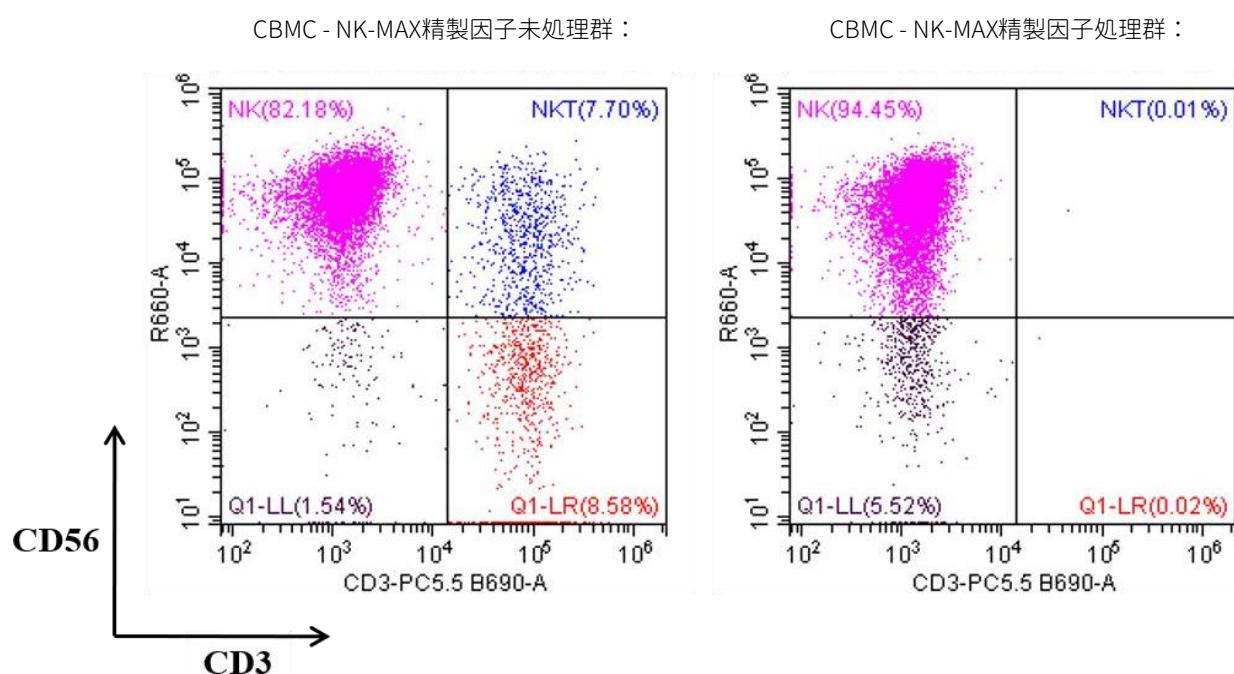


図2：臍帯血（CBMC） - NK-MAX精製因子処理群と未処理群におけるNK細胞純度の比較