

NK-MAX 精製因子-取扱説明書

一、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。

二、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℃で保存 2-8℃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。使用前にはピペティングにより十分に混和してください。

三、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

四、NK-MAX 精製因子を用いた単核細胞の調製

- 4.1 **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。

4.2 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)

4.2.1 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。

4.2.2 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。

4.2.3 単核細胞分離：4.2.2でインキュベート済み血サンプルを生理食塩水で1:1に希釈し、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。

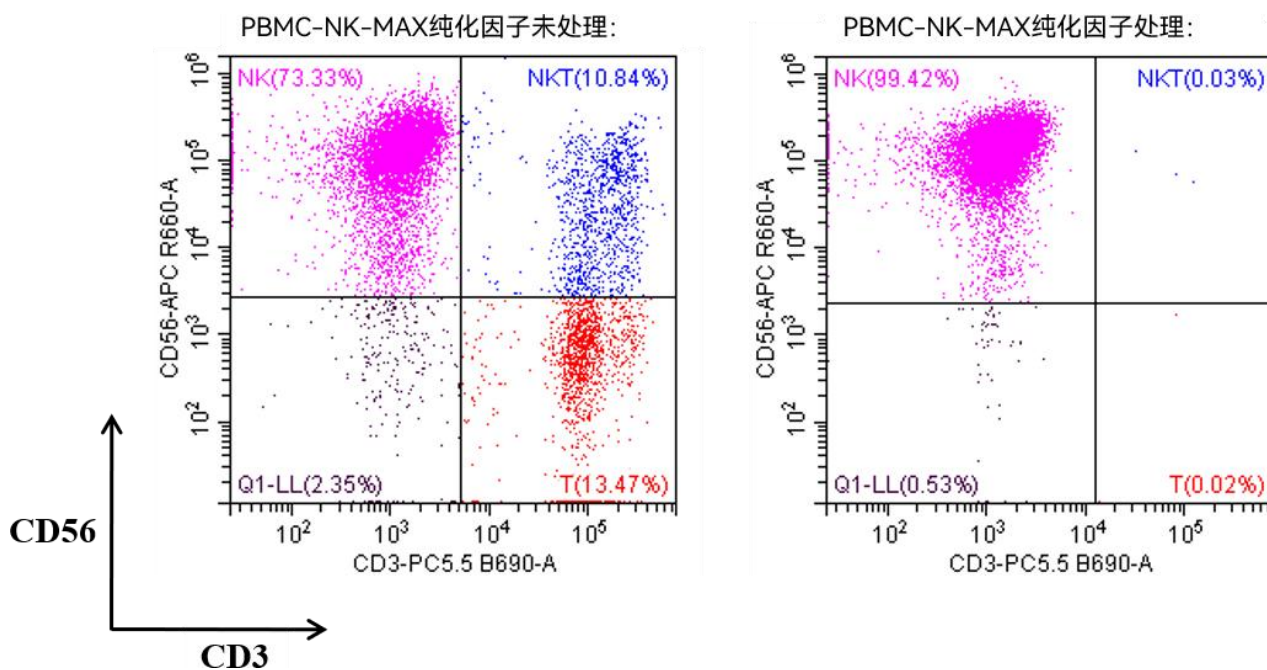


图1：末梢血（PBMC）- NK-MAX精製因子处理群と未处理群におけるNK細胞純度の比較

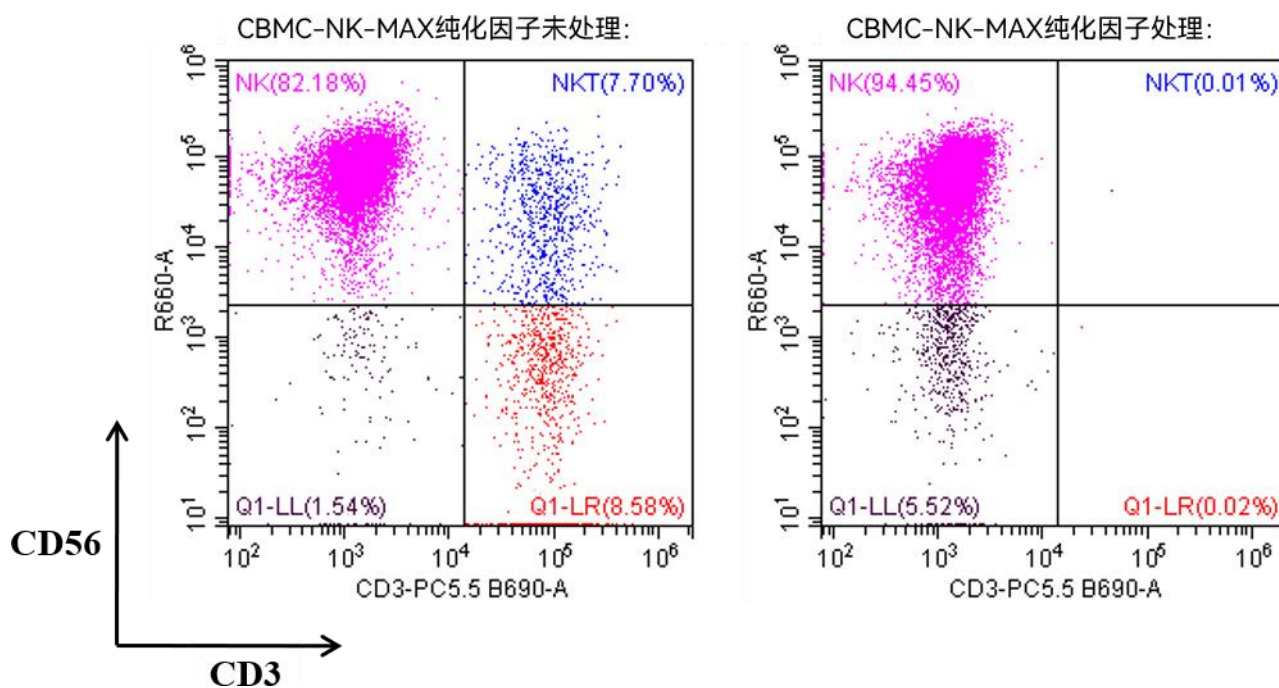


图2：臍帶血（CBMC）- NK-MAX精製因子处理群と未处理群におけるNK細胞純度の比較