

人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠

产品介绍

人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠可以轻松快捷的活化及扩增 T 细胞。

应用范围

本试剂盒适用于外周血单核细胞 (PBMC) 或 T 细胞亚群: 包括 CD3+ T 细胞、CD4+ T 细胞或 CD8+ T 细胞。

产品信息

人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠可以在没有饲养层细胞和抗原的条件下活化及扩增 T 细胞, 磁珠为直径 5 μm 的惰性超顺微球, 同时共价偶联抗 CD3 和抗 CD28 抗体, 模拟抗原呈递细胞的作用。细胞培养过程中可使用重组人 IL-2 刺激 T 细胞扩增。细胞活化或扩增后, 磁珠可以通过磁力架去除。

规格

1 \times 10⁸ beads/mL, 1 mL

1 \times 10⁷ beads/mL, 100 μL

Storage Buffer: PBS, pH 7.4+0.1% BSA+0.02% NaN₃

储存条件

2-8 $^{\circ}\text{C}$ 储存。

实验前准备

清洗 buffer: 分选 buffer 为含有 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或者含有 2mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS, 需预先通过 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

细胞培养基: RPMI1640 + 10% FBS + 2mM 谷氨酰胺 (可选加入 100 U/mL 青链霉素双抗)。当需要扩增 T 细胞时, 向培养基内加入 30 U/mL 重组人 IL-2。此外, 商品化 T 细胞培养基同样适用, 培养基内添加的生长因子可根据实验要求进行调整。

注意: 取用 T 细胞激活磁珠前彻底重悬磁珠 (如涡旋 > 30 秒, 或置于旋转仪 5 分钟), 吹打时避免产生气泡。进行流式检测前, 使用磁力架去除磁珠, 收集上清液, 进行下一步的流式检测。

实验步骤

以分选后人 CD3+ T 细胞为例

1. 清洗磁珠:

- 彻底重悬试管中的磁珠 (如涡旋 > 30 秒, 或置于旋转仪 5 分钟)。
- 吸取目标体积的磁珠至流式管中, 加入同等体积的清洗 Buffer。若使用的磁珠体积不足 1 mL, 添加 1 mL 的清洗 Buffer, 涡旋 5 秒, 或使用移液器吹打混匀, 注意避免产生气泡 (此处也可直接使用细胞培养基清洗)。
- 将流式管置于磁力架上 3 分钟, 弃上清。
- 重复步骤 b-c, 本次使用细胞培养基对磁珠再次清洗。共清洗磁珠两次。

e. 使用细胞培养基重悬磁珠 (比如: 吸取 25 μL 磁珠进行清洗, 25 μL 磁珠可用于 96 孔板的 10 个孔进行 T 细胞激活实验。清洗后用 1 mL 细胞培养基进行重悬, 进行细胞激活时, 每 100 μL 磁珠悬液加至 96 孔板的一个孔中)。

2. 人 T 细胞的激活 (以 96 孔板为例):

a. 调整 T 细胞浓度为 1 \times 10⁷ cells/mL, 每孔中加入 25 μL 细胞悬液, 此时孔内含有 2.5 \times 10⁵ 个 T 细胞, 再向孔内添加 75 μL 细胞培养基, 保持孔内总体积为 100 μL 。

b. 向孔中加入 100 μL 清洗后重悬的磁珠, 此时磁珠和细胞的数量比例为 1: 1, 孔内液体总体积为 200 μL 。使用移液枪轻轻吹打混匀孔内的磁珠和细胞。

c. 将细胞培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 培养箱中培养, 根据实验需要决定细胞的培养时长。

d. 激活 24 小时至 48 小时内, 收获激活的 T 细胞, 用于下游实验分析。

3. 人 T 细胞的扩增:

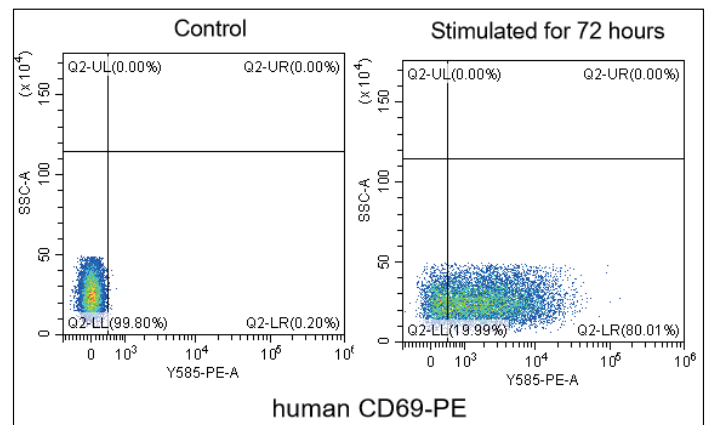
a. 按照以上步骤激活 T 细胞, 在加入磁珠的 48 小时检测 T 细胞的激活情况。细胞状态良好时, 对细胞进行轻柔吹打、传代 (若细胞增殖较慢, 可对细胞半量换液: 小心吸弃 100 μL 上清液, 再向孔内添加 100 μL 新鲜细胞培养基, 轻柔吹打混匀细胞, 继续培养 1-2 天后传代), 最后向孔内添加 30 U/mL 的重组人 IL-2。

b. 细胞与磁珠置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 培养箱中培养, 根据实验需要决定细胞的培养时长。

c. 每日或每隔两日查看细胞扩增情况, 人 T 细胞扩增形态表现为镜下可见的增殖聚团, 正常情况下 T 细胞在激活后第 4-12 天表现出较快的增殖速度。当细胞皱缩或增殖速度明显放慢时, 提示细胞可能耗竭。

注意: 在细胞激活的 48 小时内不要处理细胞, 也无需添加重组人 IL-2。2 天后随时观察细胞状态, 当培养基变黄或孔内细胞数量过多时换液或传代, 并添加重组人 IL-2。每次换液或传代后, 及时补充重组人 IL-2 至 30 U/mL。(推荐定期进行细胞计数, 当细胞密度超过 2.5 \times 10⁶ cells/mL 时, 轻柔吹打混匀, 将细胞密度调整为 0.5-1 \times 10⁶ cells/mL。)

验证效果示意图



使用人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠, 刺激 CD3+ T 细胞 72 小时, 用 PE anti-human CD69 抗体 (克隆号 FN50) 标记后进行流式细胞仪分析。刺激前后 CD69 T 细胞占总 T 细胞的比例分别为 0.20% 和 80.01%。

