

人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠

货号：CD032801

产品简介

人CD3/CD28 T 细胞激活磁珠可以简单快捷的活化及扩增T 细胞，无需饲养层细胞（抗原递呈细胞）或抗原。磁珠为直径5 μm 的惰性超顺磁珠，大小与抗原呈递细胞相似，同时共价偶联抗CD3 和抗CD28 抗体。细胞培养过程中可使用重组人IL-2 刺激T 细胞群扩增。活化或扩增后，磁珠可以通过磁力架轻松去除。

产品信息

产品信息	Cat. No.: CD032801-1000 规格 (For 1×10^8 cell)	Cat. No.: CD032801-200 规格 (For 2×10^7 cell)
装量	1 mL	200 μL
磁珠浓度	1×10^8 beads/mL	
保存液	0.1% BSA 和0.1% proclin-300 的PBS, pH 7.4。	

储存条件及有效期

2-8°C 保存，不可冷冻，有效期见试管标签。

适用范围

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。

实验试剂

- 清洗buffer: 含有2 mM EDTA 和2% 胎牛血清（FBS）的PBS 或者含有2 mM 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 添加2mM 谷氨酰胺、10% FBS，（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，并且培养基内添加的生长因子可根据实验要求进行调整。

注意事项

取用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（包括结合在细胞上的磁珠，可以通过轻柔吹打释放磁珠），此时细胞位于上清液中。收集上清液，进行下一步的流式检测。

操作流程

以分选后人CD3⁺ T 细胞为例：

一、清洗磁珠

1. 彻底重悬试管中的磁珠（如涡旋>30 秒，或置于旋转仪5 分钟）。
2. 吸取目标体积的磁珠至流式管中，加入同等体积的清洗Buffer。若不足1mL，添加1mL 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）。
3. 将流式管置于磁力架上3 分钟，弃上清。
4. 重复步骤2-3，本次使用细胞培养基对磁珠再次清洗。共清洗磁珠两次。
5. 使用细胞培养基重悬磁珠（比如：吸取25 μ L 磁珠进行清洗，清洗后用1 mL 细胞培养基进行重悬）。

二、人 T 细胞的激活（以96 孔板为例）

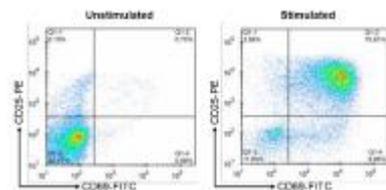
1. 调整T 细胞浓度为 1×10^7 cells/mL，每孔中加入25 μ l T 细胞，此时孔内含有 2.5×10^5 个T 细胞，保持培养基体积为100 μ l。
2. 向孔中加入100 μ l 清洗后重悬的磁珠，此时磁珠和细胞的比例为1: 1。
（可根据实验需要自行调整磁珠和细胞的使用比例，推荐比例为磁珠：细胞1: 1）
3. 将细胞与磁珠置于37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 培养箱中孵育，根据实验需要决定细胞的培养时长。
4. 收获激活的T 细胞，用于下游实验分析。

三、人 T 细胞的扩增

1. 调整CD3⁺ T 细胞种板浓度为 $1-1.5 \times 10^6$ cells/mL，按照磁珠与细胞比例1: 1 加入激活磁珠。
2. 激活2 天后，向培养基中添加30 U/mL 的重组人IL-2。
3. 细胞与磁珠放于37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 培养箱中孵育，根据实验需要决定细胞的培养时长。
4. 每日查看细胞激活与扩增情况，注意细胞的大小和形状。当细胞皱缩或增殖速度明显放慢时，提示细胞可能耗竭。
5. 推荐在细胞激活的前2 天时不要处理细胞，2 天后随时观察细胞状态，当培养基变黄或孔内细胞数目过多时换液或传代。每次换液或传代后，应及时补充重组人IL-2 至30 U/mL。
6. 定期进行细胞计数，当细胞密度超过 2.5×10^6 cells/mL 时，轻柔吹打混匀，将细胞密度调整为 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL。

激活效果

使用人CD3/CD28 T 细胞激活磁珠，刺激CD3⁺ T 细胞24 到48 小时，细胞用FITC anti-human CD69 抗体（克隆号 FN50 ）和PE anti-human CD25 抗体（克隆号BC96）标记，进行流式细胞仪分析。刺激前后CD25⁺ CD69⁺ T 细胞占总细胞的比例分别为0.70% 和75.81%。



官方网址：<http://www.genesion.com.cn>

订货热线：4006169114、020-84224925

Email:whiga22@126.com

