

# 人CD3/CD28 T细胞激活磁珠

## ➤ 产品描述:

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  $\mu\text{m}$  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。

## ➤ 规格和组分:

产品信息	Cat.No.:RG11-705-1000 规格 (For $1 \times 10^8$ cells)	Cat.No.:RG11-705-200 规格 (For $2 \times 10^7$ cells)
试剂量	1 mL	200 $\mu\text{L}$
磁珠浓度	$1 \times 10^8$ beads/mL	
保存液	0.1% BSA 和 0.1% proclin-300 的 PBS, pH 7.4	

➤ **储存条件:** 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<sup>+</sup> T 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞或 CD8<sup>+</sup> T 细胞。

## ➤ 实验试剂准备:

**1. 清洗buffer:** 含 2 mM EDTA 和 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS，或含 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS，需经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。

**2. 细胞培养基:** 基础培养基：RPMI 1640，含 2 mM L-谷氨酰胺和 10% FBS 或商品化 T 细胞扩增培养基。

可选添加：100 U/mL 青霉素-链霉素（双抗）。

扩增培养基：添加 30 U/mL 重组人 IL-2。

## ➤ 操作流程:

### 一. 磁珠预处理:

1. 涡旋磁珠 30 秒以上，彻底重悬试管中的磁珠。
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 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）。
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  $\mu\text{L}$  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  $1 \times 10^7$  cells/mL, 每孔中加入 25  $\mu$ L T 细胞, 此时孔内含有  $2.5 \times 10^5$  个 T 细胞, 保持培养基体积为 100  $\mu$ L。
2. 向孔中加入 100  $\mu$ L 预处理的磁珠, 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 为1: 1。)
3. 将细胞与磁珠置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub>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。

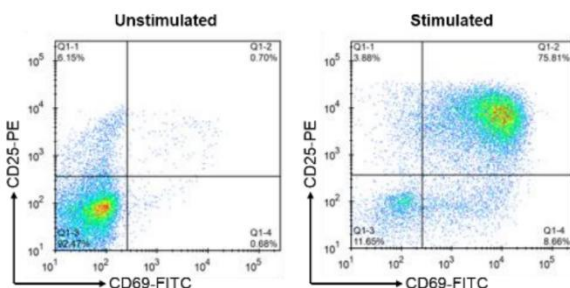
## 三. 人 T 细胞的扩增 (以分选后人CD3<sup>+</sup> T细胞为例)

1. 调整CD3<sup>+</sup> 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°C, 5% CO<sub>2</sub> 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  $2.5 \times 10^6$  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。

### ➤ 注意事项:

1. 操作前需充分混匀磁珠悬液, 避免剧烈震荡产生气泡。
2. 细胞培养过程中需严格无菌操作, 避免污染。
3. 磁珠与细胞的比例推荐为1:1, 可根据实验需求调整。
4. 进行流式检测前, 使用磁力架去除磁珠。
5. 若培养基浑浊或细胞密度过高 ( $> 2.5 \times 10^6$  cells/mL), 需及时换液或传代并补充IL-2。

### ➤ 激活效果:



使用人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠, 刺激 CD3<sup>+</sup>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<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> T 细胞占总细胞的比例分别为 0.70% 和 75.81%。