

CD3/CD28 分选激活磁珠

【产品描述】

CD3/CD28 分选激活磁珠可用于分选人 CD3⁺T 细胞，并提供了一种不需要抗原呈递细胞或抗原就能激活和扩增 T 细胞的简单方法。通过在磁珠上偶联抗 CD3 和抗 CD28 单克隆抗体，提供 T 细胞激活和扩增需要的初级和协同刺激信号，实现 T 细胞的分选、激活和扩增。此款磁珠适用于人 T 细胞、CAR-T 等多种 T 细胞培养技术的应用。

【产品信息】

货号：91-01-0020

反应种属：人

浓度： 2×10^8 beads/mL

含量：1mL

内毒素： < 0.5 EU/mL

性状：棕色悬浊液体

储存条件：2~8℃

有效期：24 个月

【使用说明】

1. PBMC 细胞处理：

1.1 将人的 PBMC 细胞重悬于含 1% HSA 的 PBS 缓冲液中，取样计数并标记 CD3 进行流式检测。

1.2 根据 PBMC 细胞 CD3 阳性率，用含 1% HSA 的 PBS 缓冲液调节 CD3⁺T 细胞密度至 1×10^7 cells/mL。

2. CD3/CD28 分选激活磁珠的清洗：

2.1 重悬磁珠（涡旋不低于 30s，或者颠倒混匀 5 min）。

2.2 按照磁珠数和 CD3+T 细胞孵育比例（推荐比例范围为 1:1~3:1。在此推荐范围内，随着磁珠量的增加，CD3+T 细胞分选效率会随之提升，细胞的激活及扩增效果也会有所差异。在实际应用中，客户可根据实际情况摸索调整），取出所需磁珠量，转移到离心管中。

2.3 向上述离心管中加入 1 mL 含 1% HSA 的 PBS 缓冲液，将磁珠进行重悬，吹打或涡旋进行润洗。

2.4 将上述装有重悬磁珠的离心管放在磁力架（磁珠专用）上，静置 1 min，弃去上清，注意不要吸取到磁珠。

3. 磁珠分选和激活 T 细胞：

3.1 向上述洗涤后的磁珠中按比例加入调整好 CD3+T 细胞密度的 PBMC，混合均匀。

3.2 将上述离心管置于转速 15~30 rpm 的混样仪上，室温孵育 30 min。

3.3 将上述离心管放在磁力架（磁珠专用）上，静置 1min，收集上清并进行计数和流式检测，标记 CD3。

3.4 用含 200 IU/mL rh IL-2 的完全培养基（客户可根据自身实际实验条件进行调整，根据实验需求明确是否使用自体血浆）重悬磁珠和细胞的混合物，并调整细胞密度为 $0.8\sim1.5\times10^6$ cells/mL。

3.5 将上述细胞悬液置于细胞培养容器中，于 37°C，5% CO₂ 培养箱中培养 48h，取样去除磁珠后计数并测试激活效率（CD69+CD25+百分比）。

4. 细胞的扩增和培养：

观察细胞状态并定期补液，当细胞密度超过 2.5×10^6 cells/mL 或培养基变黄时，调整细胞密度至 $0.5\sim1\times10^6$ cells/mL。将细胞培养至适宜时长后（一般 12-14 天）即可收获细胞。

【注意事项】

1. 细胞扩增后需定期轻轻吹打培养容器中的细胞悬液，以便充分分散磁珠和细胞。
2. 培养过程中，可以每 2~3 天进行细胞计数，细胞计数前均需去除磁珠，去除磁珠过程：将细胞培养器中的细胞混悬均匀后取样至离心管中，将其放在磁力架（磁珠专用）上，静置 1 min，取上清至新的离心管。
3. 细胞培养至适宜天数后，需去除磁珠后收获细胞。
4. 细胞培养过程中通过流式细胞术对 T 细胞的纯度、表型、活化状态进行检测。