

# 人外周血来源T细胞扩增方案

- 1 用PBS稀释配置anti-CD3功能性抗体并铺板,浓度为1-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。根据需要选择并计算所需抗体的量。以96孔板为例,每孔加入50ul(6孔板500 $\mu\text{l}$ 了)。37 $^{\circ}\text{C}$  2h或者4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜(过夜包被效果比较好)。
- 2 加入细胞前吸去孔内抗体溶液,加入200ul(6孔板2ml)PBS洗涤2次,去除未结合抗体。
- 3 取外周血PBMC(步骤省略),也可用分选的T淋巴细胞(也可选择在细胞刺激增殖后进行分选)。
- 4 PBS洗涤细胞1次,用含有anti-CD28(1-2 ug/ml)以及IL-2(10-50ng/ml)的完全培养基重悬细胞,加入96孔板(或6孔板内)。(96孔板加入3\*10<sup>5</sup>细胞,6孔板加入5-8\*10<sup>6</sup>细胞)。
- 5 培养过程中隔天换液,进行细胞计数并观察细胞状态,培养3-5天,即可见到细胞明显增殖。

以上CD3和CD28抗体的浓度,可根据自己的需求进行选择,如果培养时间短,希望有很强的活化作用可以适当提高浓度,反之,可降低浓度。虽然高浓度诱导活化能力强,但其诱导凋亡的作用也很明显。

生产商	产品编号	产品名称	产品规格
BioGems	05121-25	Anti-Human CD3 SAFIER Purified	100 $\mu\text{g}/500\mu\text{g}$
BioGems	10311-25	Anti-Human CD28 SAFIER Purified	100 $\mu\text{g}/500\mu\text{g}$
PeptoTech	200-02	Recombinant Human IL-2	10 $\mu\text{g}/50\mu\text{g}/100\mu\text{g}/250\mu\text{g}/500\mu\text{g}/1000\mu\text{g}$

