

GenXion® 小鼠 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠

货号：CD032802

产品简介

小鼠 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）和抗原。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。

产品信息

组分名称	规格 (For 1×10^8 cell)	规格 (For 2×10^7 cell)
GenXion® Mouse CD3/CD28 T Cell Activator	1 mL	200 μL

浓度： 1×10^8 beads/mL，产品保存在添加 0.1% BSA 和 0.1% proclin-300 的 PBS 中，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

本试剂盒适用于小鼠脾细胞或 T 细胞亚群：包括 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞或 CD8⁺ T 细胞。

实验试剂

- 1、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。
- 2、细胞培养基：RPMI1640 + 10% FBS + 50 μM β-巯基乙醇（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。

注意事项

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（可以通过轻柔吹打释放结合在细胞上的磁珠），收集上清液，进行下一步的流式检测。

操作流程

以分选后小鼠 CD3⁺ T 细胞为例：

1、清洗磁珠

- a. 彻底重悬试管中的磁珠（如涡旋>30 秒，或置于旋转仪 5 分钟）。
- b. 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）。
- c. 将流式管置于磁力架上 3 分钟，弃上清。
- d. 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。
- 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、小鼠 T 细胞的激活（以 96 孔板为例）

- a. 调整 T 细胞浓度为 1×10^7 cells/mL，每孔中加入 25 μL 细胞悬液，此时孔内含有 2.5×10^5 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°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。

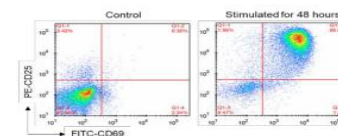
3、小鼠 T 细胞的扩增

- 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°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，小鼠 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，应及时补充重组人 IL-2 至 30 U/mL。（推荐定期进行细胞计数，当细胞密度超过 2.5×10^6 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

使用小鼠 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠，刺激 CD3⁺ T 细胞 48 小时，用 FITC anti-mouse CD69 抗体（克隆号 H1.2F3）和 PE anti-mouse CD25 抗体（克隆号 PC61）标记后进行流式细胞仪分析。刺激前后 CD25⁺ CD69⁺ T 细胞占总 T 细胞的比例分别为 0.30% 和 86.69%。



官方网址：www.genesion.com.cn

公司邮箱：GenXion@vip.qq.com

订货热线：4006-169-114、020-84224925

