

Human CD3/CD28 T Cell Activation Beads

货号: RK50023

规格: 0.2 mL/1 mL

◆ 产品简介

人 CD3/CD28 T 细胞活化磁珠无需抗原递呈细胞, 即可简单快捷地实现 T 细胞活化。该活化磁珠为直径 5 μ m 的惰性超顺磁珠, 同时共价偶联抗 CD3 和抗 CD28 抗体, 可直接刺激 T 细胞。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

规格	0.2 mL	1 mL
目的细胞数	2×10^7 cells	1×10^8 cells
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	

【适用范围】本试剂盒适用于人 PBMC 或 T 细胞亚群: 包括 CD3+T 细胞、CD4+T 细胞或 CD8+T 细胞的活化实验。

【保存条件】2°C~8°C保存, 不可冷冻。

◆ 实验所需试剂

- 清洗 buffer: 含有 2 mM EDTA 和 2% FBS 的 PBS 或者含有 2 mM EDTA 和 0.5% BSA 的 PBS, 需预先通过 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。
- 细胞培养基: RPMI1640 添加 2 mM L-Glu、10% FBS、100 U/mL P/S。当需要扩增 T 细胞时, 向培养基内额外加入 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

- 取用活化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

以分选后的人 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 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。

例：吸取 25 μL 磁珠进行清洗，清洗后用 1 mL 细胞培养基进行重悬。进行细胞活化时，每 100 μL 磁珠悬液加至 96 孔板的一个孔中。

二、人 T 细胞的活化（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 μL T 细胞悬液，此时孔内含有 2.5×10^5 个 T 细胞，再补加 75 μL 细胞培养基，保持孔内体积为 100 μL 。
2. 向孔中加入 100 μL 清洗后重悬的磁珠，此时磁珠和细胞的比例为 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。
3. 将细胞与磁珠置于 37°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. 活化 24 小时至 48 小时内，收获活化的 T 细胞，用于下游实验分析。

三、人 T 细胞的扩增

1. 按照以上步骤活化 T 细胞，加入磁珠 48 小时后检测 T 细胞的活化情况。
2. 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。
3. 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。
4. 每日或每隔两日查看细胞扩增情况，人 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 细胞在活化后第

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：在细胞活化的 48 小时内不要处理细胞，也无需添加重组 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 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）。