

$\gamma\delta$ T 细胞高效扩增试剂盒

Cat NO: IMC-015

产品描述

本试剂盒是一款高效活化诱导 $\gamma\delta$ T 细胞的活化试剂，含有优质级细胞因子，不含动物源成分，不含滋养层细胞。适用于人外周血 PBMC 的 $\gamma\delta$ T 细胞诱导培养,为 $\gamma\delta$ T 细胞培养提供极为简便的操作方案。

适用范围

适用于外周血样本培养；

培养 14 天后大多样本纯度可达 70~90%，细胞数扩增高达 200 倍以上。

规格

包装规格：1L×2，1mL×3 支；

储存条件：2~8℃保存；

有效期：12 个月；

实验材料

1. **试剂：**免疫细胞无血清培养基(1000mL*2)； $\gamma\delta$ T 细胞培养试剂盒；淋巴细胞分离液；生理盐水；DPBS 等；

2. **耗材：**TC 处理 75cm²、175cm² 细胞培养瓶；细胞培养袋；一次性 50mL 注射器；移液管；离心管等。



配套培养基信息

表 1.试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMC-015-BM	γδT 细胞基础培养基(γδT cells Basal Medium)	1 L*2	4°C,1 个月
IMC-015-A	γδT 添加剂 A	1 mL	-20°C,1 个月
IMC-015-B	γδT 添加剂 B	1 mL*2	-20°C,3 个月

操作流程

1. 血浆制备:

1.1. 将 50mL 血液平均倒入 2 个 50mL 离心管中, 700xg 离心 15min, 吸取上层血浆(取至距下层红细胞层约 0.5~1cm 处)至 50mL 离心管中, 于水浴锅中 56°C 灭活 30min;

1.2. 置于冰箱中冷却, 1200xg 离心 10min, 取上清 4°C 保存备用;

2. 单个核细胞制备

2.1. 取上一步离心后下层细胞, 加 DPBS 或生理盐水 1:1 稀释混匀, 分别缓慢加至 2 支装有 15mL 人淋巴细胞分离液的 50mL 离心管中(界面分层应清晰), 室温下 800xg 离心 20min(慢慢升慢慢降);

2.2. 离心后取单个核细胞层(白膜层)至新的 50mL 离心管中, 加入 DPBS 或生理盐水定容到 50mL, 400xg 离心 8min;

2.3. 弃上清, DPBS 或生理盐水重悬细胞并定容到 50mL, 取样计数后, 400xg 离心 8min。

3. 完全培养基配制:

3.1 取两瓶无血清培养基分别加入 γδT 添加剂 B 1 支, 混匀备用。

4. 细胞诱导活化、增殖:

4.1. **Day0:** 取 20mL 含 10% 自体灭活血浆、完全培养基重悬单个核细胞, 调整细胞密度 $1.5 \sim 2.0 \times 10^6/\text{mL}$, 加入本试剂盒中 γδT 添加剂 A 支混匀, 将细胞悬液转移至 75cm² 培养瓶中, 于 37°C、5.0% CO₂ 培养箱中培养;

4.2. **Day3:** 根据细胞生长情况, 加入 20mL 完全培养基, 1mL 自体灭活血浆, 总体积约为 40mL ;



4.3. Day5: 转瓶, 视细胞生长情况, 将 75cm² 培养瓶中的细胞转移至一个 175cm² 瓶培养 (若 贴壁细胞较多可加入**新鲜完全培养基**及**灭活自体血浆**继续培养), 加入**完全培养基** 60mL 及**灭活自体血浆** 6mL, 总体积约为 100mL;

4.4. Day7: 转袋, 将 175cm² 培养瓶中的细胞转入 1 个细胞培养袋中, 加入 150mL **完全培养基** (若贴壁细胞较多可加入**新鲜完全培养基**及**灭活自体血浆**继续培养) 及**剩余灭活自体血浆**, 总体积约为 250mL;

4.5. Day9: 视细胞生长情况, 加入**完全培养基** 350mL, 总体积约为 600mL;

4.6. Day11: 视细胞生长状态, 加入**完全培养基** 600mL, 总体积约为 1200mL (或将培养袋中 细胞悬液分为两袋, 每袋加入**完全培养基** 300mL);

4.7. Day13: 视细胞生长情况, 加入**完全培养基** 800mL, 总体积约为 2000mL; 取样质检及流式检测;

4.8. Day15: 收获 $\gamma\delta$ T 细胞。

5. 参考补液流程:

天数	操作	培养容器	培养基	补液体积/mL	血浆体积/mL	总体积/ml
D0	接种	75cm ² *1	完全培养基	18	2	20
D3	补液	75cm ² *1	完全培养基	20	1	40
D5	补液	175cm ² *1	完全培养基	60	6	100
D7	转袋	640cm ² *1	完全培养基	150	剩余自体血浆	250
D9	补液	640cm ² *1	完全培养基	350	/	600
D11	拆袋/补液	640cm ² *2	完全培养基	600	/	1200
D13	补液	640cm ² *2	完全培养基	800	/	2000
D15	收获	/	/	/	/	2000

备注: 上表仅做参考, 由于样本个体差异, 补加培养液体积或补液时间会出现上下浮动的现象, 需根据 $\gamma\delta$ T 细胞生长状况, 进行观察、计数分析后, 提供最佳的生长浓度。

注意事项

1、试剂盒注意事项:



1. 试剂盒必须规定温度保存，配制好的完全培养基应充分混匀，补液前需将要添加的培养基复温至37℃;
2. 建议使用肝素钠抗凝的采血管采血;
3. 本方案不适用于脐血来源标本培养;
4. 转瓶时若培养瓶中有贴壁细胞残留，可直接添加新鲜完全培养基及自体灭活血浆继续培养，后期可转移至培养瓶中共培养。

