

小鼠脾脏T细胞的扩增方案

- 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50 μl (6孔板500 μl)。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200 μl (6孔板2ml)PBS洗涤2次,去除未结合抗体。
- 3 研磨小鼠脾脏, PBS洗涤细胞1次,离心后的沉淀弹散,加入2ml红细胞裂解液(1X)(-Cat#64010-00-100),室温裂解5min,用完全培养基洗涤细胞一次;

注: 推荐使用BioGems红细胞裂解液, 裂解温和, 对骨髓细胞损伤小!

- 4 用含有anti-CD28(1-2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)以及1L-2(10-50 ng/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 3×10^5 细胞,6孔板加入 $5-8 \times 10^6$ 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
PeproTech	212-12	Recombinant Murine IL-2	5 μg /20 μg /50 μg /100 μg /250 μg /500 μg /1000 μg
BioGems	05112-25	Anti-Mouse CD3 SAFIRE Purified	100 μg /500 μg
BioGems	10312-25	Anti-Mouse CD28 SAFIRE Purified	100 μg /500 μg

