

# ExCell Bio

## OptiVitro® T 细胞无血清培养基 TE06 (无酚红) 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

### User Manual

Catalog Number TE000-N062

TE000-N061

TE000-N061S



## I 产品概述

OptiVibro® T 细胞无血清培养基 TE06（无酚红）（OptiVibro® T Cell Serum-free Medium TE06 (phenol red-free)）是一款专为 T 细胞培养而设计的无血清（Serum-Free）、无异源动物源成分、无外源生长因子、无酚红的 T 细胞维持和扩增培养基。和传统的含血清培养基相比，无血清、无异种成分的设计大大降低了在 T 细胞培养过程中引入异源感染物的风险，提高了培养基批次间的一致性，并且避免了血清中的不明确成分可能导致的 T 细胞过度激活，从而可以更好的扩增 T 细胞并保持其潜能，有利于进行临床及大规模转化。经严格实验室验证，OptiVibro® T 细胞无血清培养基 TE06（无酚红）适合用于扩增人外周血单个核细胞（PBMC）中的 T 细胞，也适合于 T 细胞的重激活扩增培养。

## I 产品规格

货号	品名	规格	保存条件	有效期（暂定）
TE000-N062	T 细胞无血清培养基 TE06 （无酚红）	1 kit	-	-
BA0152	T 细胞无血清基础培养基 TE06 （无酚红）	1000 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	12 个月
BA0052	T 细胞无血清培养基添加组分	8 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	18 个月
TE000-N061	T 细胞无血清培养基 TE06 （无酚红）	1 kit	-	-
BA0151	T 细胞无血清基础培养基 TE06 （无酚红）	500 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	12 个月
BA0051	T 细胞无血清培养基添加组分	4 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	18 个月
TE000-N061S	T 细胞无血清培养基 TE06 （无酚红）（试用装）	1 kit	-	-
BA0151S	T 细胞无血清基础培养基 TE06 （无酚红）（试用装）	100 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	12 个月
BA0051S	T 细胞无血清培养基添加组分（试用装）	0.8 mL	2-8 °C 避光 <sup>a</sup>	18 个月

<sup>a</sup> 只需将培养基放于不透明的冰箱内避光，无需特殊避光措施。

## I 使用方法

### 配制完全培养基

- 在生物安全柜内打开基础培养基与添加组分的盖子，每 500 mL/1000 mL 基础培养基中添加 4 mL/8 mL 添加组分，盖好基础培养基的盖子，颠倒 3~5 次混匀，即得到完全培养基，混合后的培养基建议一个月内使用。

### PBMC 中 T 细胞的激活和扩增培养

1. 复苏 PBMC: 在生物安全柜内准备一支 15 mL 离心管，向其中加入 9 mL 预热至室温的完全培养基（以下简称培养基）备用。将 PBMC 冻存管从液氮中取出，迅速放入 37°C 水浴中，不断摇动冻存管并观察其中的冰块解冻情况。当冻存管中的冰块即将完全融化（约需要 1 分钟）时，将冻存管从水浴中移出并继续晃动使冰晶完全消失；
2. 将冻存管内的 PBMC 细胞悬液全部加入准备好的 15 mL 离心管内的 9 mL 预热至室温的培养基中，吸取管内 1 mL 液体将冻存管冲洗 1 次并加回管内（此步骤为避免细胞损失）。盖好离心管盖，轻轻颠倒 4-5 次混匀。400×g 离心 5 分钟沉淀细胞，去除上清，以 1mL 或其他适量体积的培养基重悬细胞，计数；
3. 根据计数结果的活细胞数，以不超过  $2 \times 10^6$  cells/mL 密度将 PBMC 接种于 6 孔板内，每孔 2 mL 培养基，放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱内继续培养 16-24 小时（此步骤为 T 细胞激活前的静息期，但不是必须步骤，可不做）；
4. T 细胞的激活：本产品适用抗体包被培养板进行激活，也适用商业化包被了 anti-human CD3/CD28 抗体的偶联磁珠激活，以下以抗体包板培养为例：
5. 激活前一天，准备用于 T 细胞激活的 anti-human CD3/CD28 抗体包被的培养板：用 PBS 配制 anti-human CD3 抗体和 anti-human CD28 抗体的混合液，使得 anti-human CD3 抗体和 anti-human CD28 抗体的终浓度分别为 1 µg/mL 和 0.5 µg/mL（不同来源的抗体适宜使用浓度可能不同，应根据实际情况先做抗体浓度梯度测试，建议测试范围 0.5-5 µg/mL，选择激活效果最好的抗体浓度），将抗体混合液加入待用的培养板内，保证液体覆盖整个孔底，用 parafilm 封好后 4 °C 静置过夜备用。

6. 从 4 °C 冰箱中取出抗体包被培养板，生物安全柜内吸去抗体混合液，加入适量体积的培养基，加入终浓度为 300 IU/mL 的 IL-2（不同来源的 IL-2 适宜使用浓度可能不同，应根据实际情况先做 IL-2 浓度梯度测试，建议测试范围 100-500 IU/mL，选择细胞增殖效果最好的 IL-2 浓度），放入培养箱备用；
7. 从培养箱内取出复苏并静息过夜（16-24 小时）的 PBMC，在生物安全柜中用 1mL 移液器轻吹板底，收取全部细胞，400×g 离心 5 分钟，以适当体积重悬细胞并计数；
8. 从培养箱内取出准备好的 CD3/CD28 抗体包被的培养板，根据细胞计数结果，按  $0.5-1 \times 10^6$  cells/mL 密度将 PBMC 接种于培养板内，放入培养箱继续培养；
9. 补充培液或换液：可从激活后 72h 开始，观察细胞形态并计数，每 2-3 天适当补充添加了 IL-2 的新鲜培养基，将细胞密度调整在  $0.5-1 \times 10^6$  cells/mL 范围。也可离心沉淀细胞并完全更换为添加了 IL-2 的新鲜培养基，研究者可根据自身实验情况选择补液或者全部换液；
10. 转入摇瓶或反应器培养：细胞激活后第 5 天至第 7 天（Day5-Day7）适宜将静置培养的 T 细胞转入摇瓶或者反应器培养，每 2-3 天适当补充添加了 IL-2 的新鲜培养基，将细胞密度调整在  $0.5-1 \times 10^6$  cells/mL 范围，培养体积达到目标体积之后可进行部分换液或灌流。

**注意：**

培养基平衡至室温再使用。