

ExCell Bio

OptiVitro[®] T 细胞无血清培养基说明书

Catalog Number TE000-N032

TE000-N031

TE000-N031S



产品概述

OptiVibro® T 细胞无血清培养基 (OptiVibro® T Cell Medium SF, OptiVibro® T-SFM) 是一款专为 T 细胞培养而设计的无血清 (Serum-Free)、无异种成分 (Xeno-Free)、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-SFM 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。

产品规格

货号	规格	保存条件	有效期 (暂定)
TE000-N032	1008 ml	-	-
TE000-N032 (1 of 2)	1000 ml	2-8 °C 避光 ^a	12 个月
TE000-N032 (2 of 2)	8ml	2-8 °C 避光 ^a	18 个月
TE000-N031	504 ml	-	-
TE000-N031 (1 of 2)	500 ml	2-8 °C 避光 ^a	12 个月
TE000-N031 (2 of 2)	4ml	2-8 °C 避光 ^a	18 个月
TE000-N031S (试用装) ^b	100 ml	2-8 °C 避光 ^a	12 个月

^a 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。

^b 试用装已经预混, 可以直接使用。

使用方法与实验流程

配制完全培养基

将添加组分即 TE000-N03#(2 of 2)在室温溶解, 颠倒 3~5 次混匀, 用 75%酒精喷洒瓶身。在生物安全柜内打开基础培养基与添加组分的盖子, 每 1L/500mL 基础培养基中加入 8mL/4mL 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，可以开始使用，建议最佳使用期为 6 个月。（试用装即为完全培养基，无需额外添加组分。）

PBMC 中 T 细胞的激活和扩增培养

1. 复苏 PBMC

1) 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 OptiVibro® T-SFM（完全培养基）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 T-SFM 培养基中，吸取消管内 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 OptiVibro® T-SFM 重悬细胞，计数；

3) 根据计数结果的活细胞数，以不超过 2×10^6 活细胞/ml 将 PBMC 接种于 6 孔板内，每孔 2 ml OptiVibro® T-SFM，放入 37°C 二氧化碳培养箱内继续培养 16-24 小时（此步骤为 T 细胞激活前的静息期）；

2. T 细胞的激活

1) 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 抗体的偶联磁珠进行激活。以下以抗体包板培养板为例。

2) 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 T 细胞适宜的抗体浓度可能不同，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。

3) 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 OptiVibro® T-SFM，加入终浓度为 100 IU/ml 的 IL-2（不同来源的 T 细胞适宜 IL-2 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 20-400 IU/ml，选择细胞增殖效果最好的 IL-2 浓度），放入培养箱备用；

- 4) 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;
- 5) 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 $0.5-1 \times 10^6$ 活细胞/ml 密度将 PBMC 接种于培养板内, 放入培养箱继续培养。

3. 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 OptiVibro® T-SFM, 将细胞密度调整在 $0.5-1 \times 10^6$ 活细胞/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 OptiVibro® T-SFM, 研究者可根据自身实验情况选择补液或者全部换液。

4. 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 OptiVibro® T-SFM, 将细胞密度调整在 $0.5-1 \times 10^6$ 活细胞/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。