

LymGro® γ δ T 细胞体外培养试剂盒

货号	品名	规格
CT021A	LymGro® γ δ T 细胞体外培养试剂盒	Kit



源培·培源
BasalMedia

产品描述

本试剂盒是一款由唑来膦酸高效诱导的 γ δ T 细胞体外培养试剂盒，适用于新鲜和冻存的外周血 PBMC 的 γ δ T 细胞扩增，具有高扩增效率、高纯度、高活性等特点，培养 14 天后样本纯度可达 80%以上，操作简单，节省培养空间，收获细胞操作简单、时间短、所需耗材少。

采用含肝素钠的采血管，采集 10mL 静脉血，按下文步骤分离得到单个核细胞，多余的单个核细胞按 2~2.5M/支冻存在冻存液（货号：S919JV）中，以供后续扩增使用，如一次性使用全部收获的 PBMC，亦可按本试剂盒使用说明，用 TC 处理的 T25 细胞培养瓶替代 12 孔板进行包被，整个培养体系按比例放大即可。

企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO 9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

试剂盒组成

品名	货号	规格	数量	储存条件
ICSR	T104JJ	50mL	1	-30 ~ -5℃
ICGF	M250GV	100 μ L	1	-30 ~ -5℃
γ δ T 细胞培养用包被液	CT02A1	1mL	1	-30 ~ -5℃
γ δ T 细胞激活培养基	CT02B1	20mL	1	-30 ~ -5℃
NK 细胞无血清培养基	T521L0	1L	1	2 ~ 8℃
细胞稀释和洗涤溶液	B431K2	125mL	1	常温
分离管（内含 14mL 分离液）	R715J8	50mL	1	常温
1L 底透细胞培养瓶	LA-CF1000	1L	1	常温

自备实验材料

TC 处理 12 孔细胞培养板

TC 处理的 T25 细胞培养瓶、

T75、T175 细胞培养瓶

移液管、离心管等

操作步骤

1. 包被：

1.1 在 12 孔细胞培养板中，加入 1mL γ δ T 细胞培养用包被液（货号：CT02A1），水平摇晃混匀，溶液均匀铺满孔底，在 37℃ 培养箱放置 2 小时或 4℃ 冷藏过夜。

1.2 使用前吸弃包被液，加入 2mL 细胞稀释和洗涤溶液（货号：B431K2）轻柔清洗培养板底部，重复 2 次，清洗后的培养板应立即使用，注意移液、清洗过程中移液管吸头部分勿刮擦孔底。

2. 自体血浆制备：

2.1 将外周血加入 50mL 尖底离心管中，每管体积不超过 30mL，离心设置为 700g 离心 15min，升 6 降 1。

2.2 吸取离心管上层淡黄色血浆转入新 50mL 离心管，56℃ 水浴灭活 30min，离心管内剩余部分用于单个核细胞的分离。

2.3 灭活后的血浆 900g 离心 10min，升 9 降 9，取上清 4℃ 保存备用或置于 -80℃ 长期保存。

3. 单个核细胞制备

3.1 取步骤 1.2 离心后获得的下层细胞，加细胞稀释和洗涤溶液（货号：B431K2）1:1 稀释混匀，按照 21-25mL/管将稀释血液缓慢加至已预装了淋巴细胞分离液的 50mL 分离管（货号：R715J8）中（注意在加血液前应观察确保微孔隔板下无气泡，否则影响分离效果），室温 450g 离心 15min，升 3 降 3。

3.2 取单个核细胞层（白膜层）至新 50mL 离心管，加细胞稀释和洗涤溶液定容到 50mL，380g 离心 10min，升 6 降 5。

3.3 弃上清，细胞稀释和洗涤溶液重悬细胞并定容到 40mL，取样计数，剩余细胞悬液 380g 离心 10min，升 6 降 5。

4. 扩增培养基配制：

4.1 扩增培养基：在 1L/瓶的 NK 细胞无血清培养基（货号：T521L0）中加入 25 μ L 免疫细胞生长因子 ICGF（货号：M250GV），再加入 50mL ICSR（货号：T104JJ）混匀备用，2-8℃ 保存，建议 1 个月内用完。

5. γ δ T 细胞诱导激活、增殖：

Day-1：包被。

Day0：根据步骤 3.3 获得的细胞总数，加入激活培养基（货号：CT02B1）1mL，重悬单个核细胞，调整密度为 $1.5 \sim 2.5 \times 10^6$ /mL，加入到 12 孔细胞培养板中，添加自体血浆 0.1mL，置于 37℃，5.0% CO₂ 培养箱培养。

Day1：观察。

Day2：观察。

Day3: 补加 2ml 激活培养基, 添加自体血浆 0.1mL, 总体积 3mL。
Day4: 转移入 T25 瓶, 补加 3ml 激活培养基, 添加自体血浆 0.15mL, 总体积 6mL。
Day5: 补加 4ml 激活培养基, 添加自体血浆 0.12mL, 总体积 10mL。
Day6: 转移入 T75 瓶, 补加 10mL 激活培养基, 添加自体血浆 0.3mL, 维持细胞密度在 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 左右, 总体积 20mL。
Day7: 转移入 T175 瓶, 补加 40mL 扩增培养基, 总体积 60mL。
Day8: 转移入 1L 底透瓶 (货号: LV-CF1000) 中, 补加 60mL 扩增培养基, 总体积 120mL。

Day9: 加入 180mL 扩增培养基, 总体积 300mL。
Day10: 吸弃底透瓶上部培养基 120mL, 尽量不要吸到下层细胞, 加入 260mL 扩增培养基, 总体积 440mL。
Day11: 吸弃底透瓶上部培养基 200mL, 尽量不要吸到下层细胞, 补加 460mL 扩增培养基, 总体积约 700mL。
Day12: 取样计数及收获 $\gamma\delta\text{T}$ 细胞, 共 700mL 细胞, 取样质检及流式检测。

注: D4-D12: 每日计数, 根据细胞数补加培养基, 建议补加培养基前细胞密度维持在 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 左右, 不得超过 $4 \times 10^6/\text{mL}$

参考培养液体积 (mL)

培养天数	培养容器	操作	添加培养基	培养基总量	添加剂	备注 $1 \times 10^6/\text{mL}$
D-1	12 孔板	包被	包被液	1ml		
D0	12 孔板	接种	1mL 激活	1mL	10%血浆	1.5~2.5
D3	12 孔板	补液	2mL 激活	3mL	5%血浆	细胞补液根据细胞 具体情况进行调整
D4	T25	补液	3mL 激活	6mL	5%血浆	
D5	T25	补液	4mL 激活	10mL	3%血浆	
D6	T75	补液	10mL 激活	20mL	3%血浆	
D7	T175	补液	40mL 扩增	60mL	/	
D8	1L 底透瓶	补液	60mL 扩增	120mL		
D9	1L 底透瓶	补液	180mL 扩增	300mL	/	
D10	1L 底透瓶	弃 120mL 补液	260mL 扩增	440mL		
D11	1L 底透瓶	弃 200mL 补液	460mL 扩增	700mL	/	
D12	1L 底透瓶	收获		700mL	/	

注: 上表仅做参考, 需根据细胞生长状况调整

相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T110KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基, 含 HSA	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T120KJ	LymGro®NK 细胞无血清培养基, 含 HSA, 不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T150L0	LymGro® OptiT 淋巴细胞无血清培养基	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
T520L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基, 不含酚红, 无动物源	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
T521L0	LymGro® NK 细胞无血清培养基, 无动物源	1 L	2 ~ 8 °C	蓝冰
R710JV	样本密度分离液, 1.077	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
S919JV	CD-Freezer® 细胞冻存液	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS), 不含钙、镁离子和酚红	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

* 100X 代表产品的浓度是工作浓度的 100 倍。