

# LymGro® $\gamma$ $\delta$ T 细胞体外培养试剂盒

| 货号     | 品名                                    | 规格  |
|--------|---------------------------------------|-----|
| CT021A | LymGro® $\gamma$ $\delta$ 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 $\gamma$  $\delta$ T 细胞体外培养试剂盒，适用于新鲜和冻存的外周血 PBMC 的  $\gamma$  $\delta$ 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，操作简易，节省培养空间，收获细胞操作简单、时间短、所需耗材少，一次扩增所需健康人外周血量一般 20mL。

## 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  | -20℃ |
| ICGF                         | M250GV    | 100 $\mu$ L | 1  | -20℃ |
| $\gamma$ $\delta$ T 细胞无血清培养基 | T522L0    | 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

唑来膦酸、TC 处理 T75 细胞培养瓶、移液管、离心管等

## 操作步骤

### 1. 自体血浆制备：

- 1.1 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。
- 1.2 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。
- 1.3 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。

### 2. 单个核细胞制备

- 2.1 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 400g 离心 10min，升 6 降 1。

- 2.2 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。

- 2.3 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。

### 3. 扩增培养基配制：

- 3.1 配制唑来膦酸母液，配制 6mM 浓度，除菌过滤分装成相应体积，-20℃保存备用。
- 3.2 扩增培养基：在 1L/瓶的 $\gamma$  $\delta$ T 细胞无血清培养基（货号：T522L0）中加入 100 $\mu$ 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。

### 4. $\gamma$ $\delta$ T 细胞诱导激活、增殖：

Day0：根据步骤 2.3 获得的细胞总数，加入步骤 3.2 制备的扩增培养基 10mL，重悬单个核细胞，调整密度为  $2.0 \sim 3.0 \times 10^6$ /mL，加入到 T75 培养瓶中，添加唑来膦酸母液 100 $\mu$ L，其使用浓度为 6 $\mu$ M，可选择添加自体血浆 0.5mL，提高细胞活率，置于 37℃，5.0% CO<sub>2</sub>培养箱培养。

Day3：补加 20mL 扩增培养基，维持细胞密度在  $2 \times 10^6$ /mL，总体积 30mL。

Day5：补加 30mL 扩增培养基，总体积 60mL。

Day7：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：吸弃底透瓶上部培养基 30mL，尽量不要吸到下层细胞，加入 150mL 扩增培养基，总体积 240mL。

Day11：吸弃底透瓶上部培养基 80mL，尽量不要吸到下层细胞，补加 240mL 扩增培养基，总体积约 400mL。

Day12：吸弃底透瓶上部培养基 150mL，尽量不要吸到下层细胞，补加 400mL 扩增培养基，总体积约 650mL，取样质检及流式检测。

Day14：取样计数及收获 $\gamma$  $\delta$ T 细胞，共 650mL 细胞，取样质检及流式检测。

**注意：D9-D14：每日计数，根据细胞数补加培养基，建议细胞密度维持在  $2 \times 10^6$ /mL，不得超过  $4 \times 10^6$ /mL。**



源培·培源  
BasalMedia

#### 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 $1 \times 10^6$ /mL |
|------|--------|-------------|----------|-------|------------------|------------------------|
| D0   | T75    | 接种          | 10mL 激活  | 10mL  | 100 $\mu$ L 唑来膦酸 | 2.0~3.0                |
| D3   | T75    | 补液          | 20mL 扩增  | 30mL  | /                | 细胞补液根据细胞<br>具体情况进行调整   |
| D5   | T75    | 补液          | 30mL 扩增  | 60mL  | /                |                        |
| D7   | 1L 底透瓶 | 补液          | 60mL 扩增  | 120mL | /                |                        |
| D9   | 1L 底透瓶 | 部分弃液<br>后补液 | 150mL 扩增 | 240mL | /                |                        |
| D11  | 1L 底透瓶 |             | 240mL 扩增 | 400mL | /                |                        |
| D12  | 1L 底透瓶 |             | 400mL 扩增 | 650mL | /                |                        |
| D14  | 1L 底透瓶 | 收获          | /        | 650mL | /                |                        |

#### 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   |
| S110JV | 青霉素-链霉素 双抗溶液 100X                    | 100 mL | -30 ~ -5 °C | 干冰   |
| S210JV | L-谷氨酰胺溶液, 100X *                     | 100 mL | -30 ~ -5 °C | 干冰   |
| S240JV | L-丙氨酰-谷氨酰胺溶液, 100X *                 | 100 mL | 2 ~ 8 °C    | 蓝冰   |
| 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。