

人 $\gamma\delta$ T 细胞高效扩增试剂盒使用说明书

【产品名称】

中文名称：人 $\gamma\delta$ T 细胞高效扩增试剂盒

英文名称：Human $\gamma\delta$ T cell robust expansion kit

【编号】

CT-004

【包装规格】

2L/套

【试剂盒组成】

成份名称	物理性状	规格	数量
GD-I	无色透明液体	500 μ L/支	1 支
GD-II	无色透明液体	100 μ L/支	1 支
GD-III	橙黄色澄清液体	25mL/瓶	1 瓶
GD-IV 无血清培养基	红色澄清液体	1L/瓶	2 瓶

【预期用途】

适用于从人新鲜外周血、浓缩白细胞来源的单个核细胞以及冻存的单个核细胞在体外扩增成 $\gamma\delta$ T 细胞。

【贮藏条件与有效期】

GD-I, GD-II, GD-IV 置于 2-8 $^{\circ}$ C 保存, 有效期为 12 个月; GD-III 置于 -20 $^{\circ}$ C 保存, 有效期为 24 个月, 置于 2-8 $^{\circ}$ C 保存, 有效期则为 3 个月, 请勿反复冻融;
生产日期, 有效期至: 见标签。

【产品简介】

$\gamma\delta$ T 细胞具有在体内快速反应的特性，在受到刺激时，会先于 $\alpha\beta$ -T 细胞释放促炎性细胞因子（IFN- γ 和 TNF- α 等）。 $\gamma\delta$ T 细胞能够激活 NK 细胞的肿瘤细胞毒作用，与 DC 细胞互刺激成熟，APC 细胞抗原呈递的功能，激活 $\alpha\beta$ -T 细胞的免疫效应， $\gamma\delta$ T 细胞的杀伤作用具有非 MHC 限制性，广泛的杀瘤谱，已知对至少十几种肿瘤细胞有杀伤作用。

$\gamma\delta$ T 细胞在人外周血含量很少（1-5%），本产品能够将外周血中的单个核细胞大规模扩增成 $\gamma\delta$ T 细胞，具有扩增效率高，目的细胞百分比高的特点，起始单个核细胞经过 14 天培养，总细胞数可以扩增约 30±10 倍左右， $\gamma\delta$ T 细胞其纯度可达 80%左右，并且全程无血清培养为基础和临床研究使用 $\gamma\delta$ T 细胞提供一个有力的武器。

【操作步骤】

1. 第 0 天，配制 50mL 的 $\gamma\delta$ T 细胞完全培养基：45mL 的 GD-IV 培养基，5mL 的 GD-III，500 μ L 的 GD-I，100 μ L 的 GD-II 以及 IL-2（IL-2 的终浓度为 1000 IU/mL），将制备好的单个核细胞(MNC)按 1.5-2.0M cells/mL 的细胞密度接种于 50mL 已配制好的 $\gamma\delta$ T 细胞完全培养基中，混合均匀后转移至 T75 瓶中，而后再将 T75 瓶转移至 5% CO₂ 培养箱 37°C 培养。

注意：

1) IL-2 使用 1mL GD-IV 培养基溶解（IL-2 溶解后浓度为 100 万 IU/mL），存于 2-8°C 冰箱，存放时间不超过两周。建议将 IL-2 溶解后分装于无菌试剂管后保存于 -20°C 冰箱，使用时溶解即可，注意不要反复冻融，且不可使用长期置于 2-8°C 的 IL-2，否则将严重影响本试剂盒的扩增效果；

2) 请勿将 GD-III 从 -20°C 冰箱中取出后直接置于 37°C 中，GD-III 溶解完全后，轻轻摇晃瓶身，使其温度与成份均一，摇晃时，请小心避免气泡产生；

3) 在细胞铺加后与第 3 天补液之前的这段时间内，尽可能不要移动培养瓶，以免使其受到温度变动，震荡等物理因素的干扰。

2. 第 3 天（3×24h），补加 95mL 的 GD-IV 培养基，5mL 的 GD-III，IL-2（IL-2 终浓度为 1000IU/mL）转入细胞培养袋，此时袋子含 150mL 培养液；

注意：为使更多的细胞转入到培养袋中，可先将 T-75 瓶中的细胞吹打均匀，全部转入培养袋中，再用部分新鲜配制的培养液润洗培养瓶，并再次转入培养袋中，最后补齐培养液即可；

3.第 5 天，往培养袋补加 150mL 的 GD-IV 培养基，7.5mL 的 GD-III，IL-2（IL-2 终浓度为 1000IU/mL），此时袋子含 300mL 培养液；

4.第 7 天，往培养袋补加 300mL 的 GD-IV 培养基，剩余的 GD-III，IL-2（IL-2 终浓度为 1000IU/mL），然后分成两袋，此时每个袋子含 300mL 培养液；

5.第 9 天，分别往培养袋补加 300mL 的 GD-IV 培养基，IL-2（IL-2 终浓度为 1000IU/mL），此时袋子含 1100mL 培养液；

注意：D5-9 为细胞增殖高峰期，补液时注意根据细胞生长状态和密度添加培养基以保持细胞良好生长状态。

6.第 11 天，分别往每个培养袋补加 400mL 的 GD-IV 培养基，IL-2（IL-2 终浓度 1000IU/mL）

7.第 13-14 天，收获目的细胞。

【注意事项】

- 1) 在使用本试剂盒时，可先将 GD-I 与 GD-II 试剂管低速离心（如 1000g/min 离心 1min 等），确保试剂足量；
- 2) 由于样本之间的差异性，在按上述操作说明操作时，可根据具体细胞生长状态，调整补液时间；
- 3) 在使用本试剂盒时，由于样本之间的差异性，每个样本的细胞长速与诱导率存在差异。

【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

【生产企业】

企业名称：福建三一造血技术有限公司

生产地址：福建省福州市高新技术产业园创新园 10 号楼

邮政编码：350108

电话号码：（0591）22889285/4001155980

邮箱地址：sales@stemery.cn

网址：<http://www.stemery.cn>

