

## CD8 阳性 T 细胞

### CD8+ T Cells

CAT#CD8+T001/002

(仅用于科学研究)

CD8 阳性 T 细胞是从全血或者脾脏中通过 Ficoll 分离得到 PBMC，再经过美天旎抗 CD8 磁珠纯化得到的细胞，最后经过抗 CD8 抗体进行流式分析，细胞纯度不低于 90%。该细胞是原代细胞，细胞扩增需要细胞刺激因子 CD3 抗体、IL-2 或者抗原刺激方可大量扩增，建议客户仔细查阅相关文献后再开始实验。

为确保实验人员安全及生物安全，请在接触本产品及其废弃物时佩戴防护口罩、乳胶手套以及防护眼罩（复苏时）等必要的防护用品，严格按照本说明书操作，实验结束后所产生的废弃物按照国家、省、市级相关法律法规，进行无害化处理，确保生物安全。

### I 试剂与材料

- 冻存 CD8 阳性 T 细胞 (Cat# LV-CD8+T001/2)
- 培养基 (完全 RPMI1640, 见下表)
- 37°C 恒温水浴锅
- 生物安全柜
- 15ml 离心管
- 37°C/5% CO<sub>2</sub> 培养箱
- 宽口滴管和宽口移液枪头
- 移液枪
- 75% 酒精

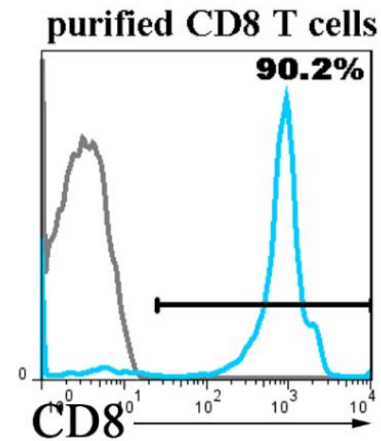
### II 完全 RPMI1640 培养基

| 成分                | 用量       |
|-------------------|----------|
| 不完全 RPMI1640 溶液   | 500ml    |
| 左旋谷氨酰胺 (L-Glu)    | 2mM      |
| 2-巯基乙醇 (2-ME)     | 50μM     |
| 青霉素(Penicillin)   | 100U/ml  |
| 链霉素(Streptomycin) | 100μg/ml |
| FCS(56°C灭活 30min) | 50ml     |

特别提醒：复苏培养基中补加 300mM 葡萄糖，可提升细胞活力及活细胞数。

### III 细胞的复苏与铺板

**重要提示：解冻时，冻存细胞转移必须使用液氮转移；在整个复苏实验过程中必须全程使用宽口枪头。**



1. 完全 RPMI1640 培养基放入 37°C 恒温水浴锅中让其充分预热。
2. 将冻存的细胞从冷藏位置迅速转移至 37°C 恒温水浴锅中。将冻存管尽可能多的浸入 37°C 水中，作规律的水平摇动，但必须确保冻存管盖子保持在水面以上。
3. 解冻冻存管至刚好完全溶解成液体，约 90-120 秒。
4. 用 75% 酒精对冻存管消毒，并将其转移到生物安全柜中。
5. 小心地将解冻后的细胞吸出，移至 15ml 离心管，并用培养基润洗一遍冻存管及吸取细胞的枪头。
6. 一边摇晃离心管，一边加入完全 RPMI1640 培养基至 12ml (注意：前 3ml 要缓慢逐滴加入并摇晃，后面 9ml 可加快速度)，最后上下颠倒混匀。
7. 20°C，650g，升速 7，降速 4，离心 5min。
8. 弃上清，加入 3ml 完全 RPMI1640 培养基重悬细胞，并用台盼蓝染色计数 ( $V_{\text{细胞悬液}} : V_{0.4\% \text{台盼蓝}} = 9 : 1$ ，细胞活率使用血球计数板手工计数，勿用细胞计数仪；细胞总数使用细胞计数仪计数) 测定细胞的活力、细胞总数，建议细胞总数检测 3 次，求取平均值；为节约时间，细胞活率检测 1 次。
9. 按实验要求的密度进行铺板。
10. 在 37°C/5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

### IV 关于售后

如您发现产品有任何质量问题，请您收集原始数据，并第一时间联系公司销售或者技术支持，公司安排人员保证售后。每个实验室条件不同，操作人员习惯不同，熟练程度不一样，实验失败存在客观因素。如未严格按照说明书操作、超过售后时限，公司不做售后，请老师理解与支持。

售后有效期与提供的原始数据：

复苏问题：立刻报告异常；提供台盼蓝染色或者 AO/PI 染色。

污染问题：复苏 96 小时以内；提供相差显微镜照片。

纯度问题：一个月内；提供免疫荧光或者流式结果。

## V 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）