

ActSep[®] CD3/CD28 分选激活磁珠说明书

说明书编号: DS-BD-G-603-A/3

产品名称

通用名称: ActSep[®] CD3/CD28 分选激活磁珠英文名称: ActSep[®] CD3/CD28 Separation & Activation Magnetic Beads

包装规格

规格/货号: 1mL / GMP-TL603-1000

5mL / GMP-TL603-5000

产品性能

反应种属: 人

浓 度: 2×10^8 beads/mL内 毒 素: < 0.5 EU/mL

性 状: 棕色悬浊液体

预期用途

ActSep[®] CD3/CD28 分选激活磁珠可用于分选人 CD3⁺T 细胞,并提供了一种不需要抗原呈递细胞或抗原就能激活和扩增 T 细胞的简单方法。通过在磁珠上偶联抗 CD3 和抗 CD28 单克隆抗体,提供 T 细胞激活和扩增需要的初级和协同刺激信号,实现 T 细胞的分选、激活和扩增。此款磁珠适用于人 T 细胞、CAR-T 等多种 T 细胞培养技术的应用。适用于生产细胞治疗产品。

使用说明

1. PBMC 细胞处理:

1.1 将人的PBMC细胞重悬于含1% HSA的PBS缓冲液中,取样计数并标记CD3进行流式检测。

1.2 根据PBMC细胞CD3阳性率,用含1% HSA的PBS缓冲液调节CD3⁺T细胞密度至 1×10^7 cells/mL。

2. ActSep[®] CD3/CD28 分选激活磁珠的清洗:

2.1 重悬磁珠(涡旋不低于30s,或者颠倒混匀5 min)。

2.2 按照磁珠数和CD3⁺T细胞孵育比例,取出所需磁珠量,转移到离心管中。(推荐使用比例为1:1,可根据实际工艺在1:1-3:1的范围内进行调整,随着磁珠量的增加,CD3⁺T细胞分选效率会随之提升,细胞的激活及扩增效果也会有所差异。)

2.3 向上述离心管中加入1 mL含1% HSA的PBS缓冲液,将磁珠进行重悬,吹打或涡旋进行润洗。

2.4 将上述装有重悬磁珠的离心管放在磁力架(磁珠专用)上,静置 1 min,弃去上清,注意不要吸取到磁珠。

3. 磁珠分选和激活 T 细胞:

3.1 向上述洗涤后的磁珠中按比例加入调整好 CD3⁺T 细胞密度的 PBMC,混合均匀。

3.2 将上述离心管置于转速 15~30 rpm 的混样仪上,室温孵育 30 min。

3.3 将上述离心管放在磁力架(磁珠专用)上,静置 1min 后,弃上清。(或可收集上清并进行计数和流式检测,标记 CD3,用以评估分选效率。)

3.4 用含 200 IU/mL rh IL-2 的完全培养基（客户可根据自身实际实验条件进行调整，根据实验需求明确是否使用自体血浆）重悬磁珠和细胞的混合物，并调整细胞密度为 $0.8\sim 1.5\times 10^6$ cells/mL。

4. 细胞的扩增和培养：

4.1 培养 48h 后，去除磁珠，将细胞转移至离心管，将离心管放在磁力架上，静置 1min，收集上清继续进行培养。注：可选步骤，客户可根据自身实验优化进行去磁时间调整。

4.2 观察细胞状态并定期补液，当细胞密度超过 2.5×10^6 cells/mL 或培养基变黄时，调整细胞密度至 $0.5\sim 1\times 10^6$ cells/mL。将细胞培养至适宜时长后（一般 12-14 天）即可收获细胞。

注意事项：

1. 细胞扩增后需定期轻轻吹打培养容器中的细胞悬液，以便充分分散磁珠和细胞。
2. 培养过程中，可以每 2~3 天进行细胞计数，细胞计数前均需去除磁珠，去除磁珠过程：将细胞培养器中的细胞混悬均匀后取样至离心管中，将其放在磁力架（磁珠专用）上，静置 1 min，取上清至新的离心管。
3. 细胞培养至适宜天数后，需去除磁珠后收获细胞。
4. 细胞培养过程中通过流式细胞术对 T 细胞的纯度、表型、活化状态进行检测。（如，可在细胞磁珠混悬液培养 48h 后取样去除磁珠，计数并测试 T 细胞膜上 CD69⁺CD25⁺的表达变化，以评估激活效率。）
5. 使用前可将本产品放置于 50mL 离心管中，1000rpm 离心 1min，将胶塞残留液体离心至瓶底。

注意事项

本产品仅适用于体外细胞培养，不可直接用于临床治疗。

存储条件

2~8°C

有效期限

24 个月

生产企业的名称

北京同立海源生物科技有限公司

住所

北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 13 号楼 1 至 3 层

联系方式

400-010-5556

参考文献

1. David M Barrett, Nathan Singh, Xiaojun Liu, Shuguang Jiang, Carl H June, Stephan A Grupp, Yangbing Zhao (2014). Relation of clinical culture method to T-cell memory status and efficacy in xeno graft models of adoptive immunotherapy. *Cytotherapy*. 16(5):619-30.
2. Barbara Tumaini, Daniel W Lee, Tasha Lin, Luciano Castiello, David F Stroncek, Crystal Mackall, Alan Wayne, Marianna Sabatino. (2013). Simplified process for the production of anti-CD19-CAR-engineered T cells. *Cytotherapy* 15:1406-1415.

说明书编制

核准日期：2023 年 10 月 17 日
核准日期：2023 年 11 月 23 日
核准日期：2025 年 04 月 14 日