

## 抗CD3抗体によるT細胞活性化

### 抗CD3 (クローンUCHT1またはHIT3a)によるヒトT細胞活性化

#### 試料

- 滅菌PBS
- 抗ヒトCD3、クローンUCHT1 (LEAF™ format, Cat. No. 300413/4) もしくはクローンHIT3a (LEAF™ format, Cat. No. 300313/4)
- 細胞培養培地 (例: 10%FBSと2mMのL-グルタミンを加えたRPMI-1640 もしくはIMDM)
- T細胞もしくはT細胞サブセットから単離した精製フィコール・ハイパック末梢血単核球の無菌単一細胞懸濁液
- 蓋付きの96穴平底組織培養プレート (例: Costar® Cat. No. 3596)

#### 手順

1. 滅菌PBSで抗CD3 (クローンUCHT1もしくはHIT3a) の10  $\mu$ g/mL溶液に調製します。
2. 96穴アッセイプレートの各マイクロウェルに抗体溶液50  $\mu$ Lを分注します。無刺激のコントロールウェルには、滅菌PBS50  $\mu$ Lを加えます。
3. プレートを密着します。37°Cで2時間、もしくは4°Cで一晩インキュベートします。
4. 無菌操作で、マイクロウェルプレートを傾けて、抗体溶液の上清を移します (デカントします)。
5. 滅菌PBSで3回、プレートのマイクロウェルを洗います。液体は廃棄します。
6. 1-2 x 10<sup>6</sup>/mLの細胞培養培地を追加した目的細胞の単一細胞懸濁液を調製します。
7. プレートのマイクロウェルに200  $\mu$ Lの細胞懸濁液を分注し、蓋をかぶせます。5%CO<sub>2</sub>と湿度100%、37°Cで3日間培養します。

※LEAF™ purified UCHT1 (1  $\mu$ g/mL) もしくは LEAF™ purified HIT3a (0.01 - 0.1  $\mu$ g/mL)の可溶型は、PBMC (末梢血単核球)細胞集団活性化に使われる可能性があります。

### 抗CD3 $\epsilon$ (クローン145-2C11)によるマウスT細胞活性化

#### 試料

- 滅菌PBS
- 抗マウスCD3  $\epsilon$ 、クローン145-2C11 (LEAF™ format, Cat. No.100313/4)
- 細胞培養培地 (例: 10%FBSと2mMのL-グルタミンを加えたRPMI-1640 もしくはIMDM)
- T細胞もしくはT細胞サブセットから単離した無菌単一細胞懸濁液 (例: 脾細胞、リンパ節細胞)
- 蓋付きの96穴平底組織培養プレート (例: Costar® Cat. No. 3596)

#### 手順

1. 滅菌PBSで抗CD3  $\epsilon$  (クローン145-2C11) の5  $\mu$ g/mL溶液に調製します。
2. 96穴アッセイプレートの各マイクロウェルに抗体溶液50  $\mu$ Lを分注します。無刺激のコントロールウェルには、滅菌PBS50  $\mu$ Lを加えます。
3. プレートを密着します。37°Cで2時間、もしくは4°Cで一晩インキュベートします。
4. 無菌操作で、マイクロウェルプレートを傾けて、抗体溶液の上清を移します (デカントします)。
5. 滅菌PBSで3回、プレートのマイクロウェルを洗います。液体は廃棄します。
6. 目的細胞の単一細胞懸濁液を調製します。
7. 1-2 x 10<sup>6</sup>/mLの細胞培養培地を追加した細胞を再懸濁します。
8. プレートのマイクロウェルに200  $\mu$ Lの細胞懸濁液を分注し、蓋をかぶせます。5%CO<sub>2</sub>と湿度100%、37°Cで3日間培養します。

トミーデジタルバイオロジー株式会社  
カスタマーサポート  
〒110-0008東京都台東区池之端2-9-1  
TEL : 03-5834-0843 Fax : 03-5815-0813  
mail : [Biolegend@digital-biology.co.jp](mailto:Biolegend@digital-biology.co.jp)