

TIL 细胞培养试剂盒说明书

【产品名称】TIL 细胞培养试剂盒

【产品货号】MCF-005

【包装规格】1 支试剂 A (0.5ml/支)、1 支试剂 B (0.5ml/支)、1 支试剂 C (0.5ml/支)、1 支试剂 D (0.5ml/支)、4 支试剂 E (1ml/支)。

【预期用途】

本细胞培养试剂套装用于胸腹水 (500ml) 收集的 TIL 细胞培养, 经 14 天培养, 细胞扩增倍数达 300 倍以上, 主要的 CD3+CD8+TIL 细胞比例 $\geq 80\%$, 细胞活性 $>95\%$ 。

【储存条件及有效期】

TIL 细胞培养试剂盒储存于 -20°C (长时间储存请置于 -80°C)。

有效期 12 个月。

【样本要求】

本试剂套装用于胸腹水收集获得的细胞, 胸腹水收集时应无菌操作且处理和运输过程中避免冷冻。

【使用方法】

1. **TIL 细胞培养瓶包被:** 将细胞因子组合中**试剂 A**、**试剂 B**、**试剂 C**溶于 20ml DPBS 中, 转移至 T175 培养瓶中, 37°C 避光放置 2-3h, 或 4°C 避光放置 12h 以上 (推荐)。包被瓶有效期 3 天。
2. 淋巴细胞分离
 - 2-1. 提前 30min 将淋巴细胞分离液从 4°C 冰箱中取出置于室温, 待温度升至室温后使用。
 - 2-2. 将收集的胸腹水转移至 225ml 离心管中 (根据胸腹水量决定 225ml 离心管用量), 2000rpm 离心 10min, 弃上清, 用 DPBS 重悬细胞, 收集所有细胞至一个 50ml 离心管中。
 - 2-3. 加入 DPBS 至 50ml 混匀, 各取 25ml 沿管壁缓慢加至两管淋巴细胞分离液面上, 注意保持清楚的界面, 以 800g 离心 15min (缓升缓降) 后, 离心管中由上至下分为四层。
 - 2-4. 收集第二层环状乳白色淋巴细胞加入到一个 50ml 离心管中, 补加 DPBS 至 50ml, 600g 离心 10min, 弃上清液, 再用 50ml DPBS 重悬细胞, 500g 离心 10min, 弃上清液。
3. TIL 细胞培养液的配制: 每瓶 (1L) 无血清培养基中加入一支**试剂 E**、1ml 庆大霉素 (终浓度 40IU/ml) 配制完全培养液。
4. TIL 细胞培养
 - 4-1. 吸出预处理的 T175 培养瓶中试剂, 包被瓶用 10ml DPBS 清洗一遍 (勿冲包被面)。
 - 4-2. 将步骤 2-4 得到的淋巴细胞用 40ml TIL 细胞培养液重悬, 转移到上述 T175 培养瓶中, 同时加入**试剂 D**, 置于恒温培养箱 (37°C 、5.0% CO_2 、饱和湿度) 中培养。
 - 4-3. 第 2 天, 补加 60ml 新鲜的 TIL 细胞培养液。
 - 4-4. 第 4 天, 补加 50ml 新鲜的 TIL 细胞培养液。
 - 4-5. 第 5 天, 将 T175 培养瓶中细胞完全吹打下来, 转移到 2 个 2L 的细胞培养袋中, 补加 TIL 细胞培养液至 400ml/袋。
 - 4-6. 第 7 天, 视细胞生长状态, 补加 TIL 细胞培养液至 800ml/袋。
 - 4-7. 第 9 天, 视细胞生长状态, 补加 TIL 细胞培养液至 1400ml/袋。
 - 4-8. 第 11 天, 视细胞生长状态, 补加 TIL 细胞培养液至 2000ml/袋, 同时取样做细菌、

真菌、支原体、内毒素检测。

5. TIL 细胞收获

5-1. 第 14 天, 2000rpm×10min 离心条件收集 TIL 细胞, 然后以 2000rpm×8min 离心条件用生理盐水洗涤细胞 2 次, 细胞计数, 用生理盐水重悬细胞制成终制品, 封装。

【产品性能指标】

1. 外观: 试剂盒标签、各组分标签清晰, 易识别, 各试剂小管置于产品内包装中, 各组分齐全, 液体无渗漏。
2. 细菌内毒素: < 0.5EU/ml。
3. 细菌: 无细菌检出。
4. 真菌: 无真菌检出。
5. 支原体: 无支原体检出。
6. 细胞生长测试: 培养14天细胞扩增倍数达300倍以上, 主要的CD3+CD8+TIL细胞比例≥80%, 细胞活性>95%。

【注意事项】

1. 各试剂应置于规定储存条件保存, 避免微生物的污染。
2. 使用前, 试剂盒试剂从-20℃条件下取出, 置于4℃条件下缓慢解冻。
3. 使用前, 试剂盒试剂需瞬时离心。
4. 不同批次试剂盒中各组分不可互换使用。
5. 严禁使用过期产品。

【标识的解释】无

【基础信息】

生产企业名称: 深圳市默赛尔生物医学科技发展有限公司

生产地址: 深圳市龙华新区龙华街道清祥路清湖工业园宝能科技园6栋A座15楼ABCDEF单位

联系方式: 0755-86548612

网址: <http://www.morecell.com.cn/>

默赛尔
BIOMEDICAL