人 S-DCT 高效扩增试剂盒（套装）使用说明书

【产品名称】

中文名称：人 S-DCT 高效扩增试剂盒（套装）

英文名称：Human S-DCT robust expasion kit（set)

【编号】

CT-007

【包装规格】

2L/套

【套装组成】

序号	组成名称及货号		物理性状	规格	数量
1	人 S-DCT 高效扩增试剂盒（CT-007-R）	SDCT-I (CT-007-R1)	无色透明液体	30μL/支	1 支
		SDCT-II (CT-007-R2)	无色透明液体	10μL/支	1 支
		SDCT-III （CT-007-R3)	无色透明液体	50μL/支	1 支
		SDCT-IV (CT-007-R4)	无色透明液体	100μL/支	1 支
		SDCT-V (CT-007-R5)	无色透明液体	30μL/支	1 支
		SDCT-VI (CT-007-R6)	无色透明液体	1ml/支	4 支
		SDCT-VII (CT-007-R7)	无色透明液体	100μL/支	1 支
		SDCT-VIII (CT-007-R8)	无色透明液体	1ml/支	1 支
		SDCT-IX (CT-007-R9)	无色透明液体	1ml/支	2 支
		S-DCT 培养添加剂(CT-007-R10)	棕黄色澄清液体	10mL/瓶	1 瓶
2	S-DCT 培养基-I (CT-007-11)		红色澄清液体	90mL/瓶	1 瓶
	S-DCT 培养基-II (CT-007-12)		红色澄清液体	1L/瓶	2 瓶

【预期用途】

适用于从人单个核细胞（MNC）在体外高效扩增成广谱特异性杀伤细胞。

【贮藏条件与有效期】

SDCT-I 因子，SDCT-II 因子，SDCT-III 因子，SDCT-IV 因子，SDCT-V 因子与 SDCT 培养添加剂均需-20℃保存，有效期为 12 个月。SDCT-VI 因子，SDCT-VII 因子，SDCT-VIII 因

子，SDCT-IX 因子，SDCT 培养基-I 与 SDCT 培养基-II 均需 2-8℃避光保存。有效期为 12 个月。

生产日期，有效期至：见标签。

【产品简介】

广谱抗原特异性杀伤细胞，能识别带特异性抗原的靶细胞，并通过分泌穿孔素，颗粒酶，肿瘤坏死因子的途径杀伤靶细胞，因此在抗病毒感染、同种异体移植排斥反应和抗肿瘤免疫中起重要作用。本试剂盒适用于从单个核细胞（MNC）在体外高效扩增成广谱特异性杀伤细胞，所生成的 CTL 可识别例如 Her-2，Muc1 等多种抗原表位，为抗肿瘤基础及临床转化研究提供一个有力工具。

【操作步骤】

一 血浆的提取与保存

注意：

1）禁止使用 EDTA 抗凝的血样，因为 EDTA 会抑制 DC 成熟以及 T 细胞的激活与增殖；

2）所取血样最好不超过 12 小时，因为血样的时间越长，所提取的 PBMC 中杂细胞越多，且 PBMC 的活性会降低。

1 肝素钠管或枸橼酸钠采血袋采集外周血 150mL；

2 将取到的外周血置于 50mL 离心管中，室温下 650g，离心 15min（快升缓降：离心机升速 9，降速 1）；

（注意：本说明书提到的的离心机上的数字越大表示速度升得越快或降得越快，数字越小表示 离心机升得越慢或降得越慢，但有厂家仪器设置则相反。）

3 取上层黄色血浆部分于新的 50mL 离心管中（下层为血液细胞成分，用于后续单个核细胞的提取）；

4 将血浆置于 56°C 水浴锅中灭活 30min；

5 血浆灭活完毕后，可见血浆呈现浑浊状，900g，离心 10-15min（快升缓降：离心机升速 9，降速 4）；

6 取上清，于 4°C 保存待用。

二 外周血单个核细胞提取

1 取血浆提取步骤的下层红色细胞沉淀，加入生理盐水或 PBS 至原体积；

2 取 50mL 离心管，分别加入 15mL 淋巴细胞分离液，并将 1 步骤中的血液 20-30mL/管，分别缓缓铺加到淋巴细胞分离液的上层；

注意：铺加血样时建议速度适中，尤其是刚开始时的铺加， 避免破坏淋巴细胞分离液与血样的界面。

3 室温下，800g 离心 20min（离心机缓升，无闸减速（降速 0），升速 1-5）；

注意：过快的升速会减少后续单个核细胞的收获量。

4 离心后，离心管中样品由上到下分为 4 层：血浆层-白膜层-人淋巴细胞分离液层-红细胞与粒细胞的沉淀。分别小心吸取白膜层及其以下约一半的液体于新的离心管中，并加入生理盐水或 PBS 至 40mL 体积，混匀，300g 离心 10min（离心机快升缓降：升速 9，降速 4）；

5 弃上清，沉淀再次用 40mL 的生理盐水或 PBS 重悬，300g 离心 10min（离心机快升缓降：升速 9，降速 4）；

6 弃上清，细胞沉淀即为 PBMC，待用。

三 DC 细胞诱导

1 第 0 天，取**<外周血单个核细胞提取>步骤**中所得的 PBMC 细胞，用 100ml 含 5%自体血浆的 RPMI 1640 培养液重悬，分别铺于 2 个 T-75 培养瓶中（即每个培养瓶铺有 50mL 的 PBMC 悬液），置于 37℃、5% CO_2 培养箱孵育 2h；

注意：建议采用非 TC 处理的培养瓶培养，以减少后续 DC 细胞的贴壁情况。

2 预先配制 DC 细胞诱导培养基（含 90ml SDCT 培养基-I，10ml SDCT 培养添加剂，30uL 的 SDCT-I 因子和 10uL SDCT-II 因子）；

3 孵育 2h 后，轻晃 T-75 培养瓶，将未贴壁的细胞悬浮起来，**收集，用于 T 细胞的激活（T 细胞的激活见第四条）。**用 20ml 的 RPMI 1640 培养液或 PBS 洗涤 T75 瓶两次，洗涤完毕后，在每个培养瓶中均加入 50ml 预先配制好的 DC 细胞诱导培养基，继续置于 37℃、5%CO_2 培养箱；

注意：在洗涤时，可用移液管吸取 RPMI 1640 或 PBS 轻轻冲洗贴有细胞的培养瓶瓶壁，以去除更多没有贴壁的淋巴细胞。

4 第 2 天（2×24h），每个培养瓶分别加入 25μL 的 SDCT-III 因子，50μL 的 SDCT-IV 因子，15μL 的 SDCT-V 因子以及 2mL 的 SDCT-VI 因子，，轻轻混匀；

5 第 4 天，收获 DC 细胞（具体方法见第五条**特异性杀伤细胞的生成**），待用。

四 T 细胞激活

第 0 天，配制 50mL 的 T 细胞完全培养基：SDCT 培养基-II 45mL，10%已热灭活的自体血浆（5mL），100μL 的 SDCT-VII 因子，1mL 的 SDCT-VIII 因子以及 IL-2（IL-2 的终浓度为 500 IU/mL），将**<DC 细胞诱导>**操作中第 0 天 T75 瓶孵育 2h 后悬浮起来的细胞按 1.5M cells/mL 的细胞密度接种于 50mL 已配制好的 T 细胞完全培养基中，混合均匀后转移至 T75 瓶中，而后将 T75 瓶转移至 5% CO_2 培养箱 37°C 培养。

注意：T 细胞的激活操作与 DC 细胞的诱导操作在同一段时间内完成，即一份 PBMC 细胞，接种于 T75 瓶后，贴壁的细胞用于诱导培养 DC 细胞，而贴壁后所剩的悬浮细胞则用于 T 细胞的激活。

五 特异性杀伤细胞的生成

1 **第 4 天，**此时 DC 细胞成熟，并且 T 细胞已被激活。收集**<DC 细胞诱导>步骤**中两个 T75 培养瓶中已成熟的 DC 细胞，300g 离心 10min（离心机快升缓降：升速 9，降速 4）；

注意：有的样本有较大量 DC 细胞贴壁的现象，可先将悬浮的细胞收集后，再用 10mL 移液枪吸取 PBS 或生理盐水反复吹打，而后合并。

2 上个步骤其中一个培养瓶中收获的 DC 细胞可供临床研究使用（如:可以使用 SDCT-IX 因子 2ml 混匀左右肩部三角肌各皮下注射 1ml）。另一个培养瓶中收获的 DC 细胞可以供后续与 T 细胞共培养获得特异性 T 细胞；

3 收集**< T 细胞激活>步骤**中的 T 细胞，300g 离心 10min（离心机快升缓降：升速 9，降速 4）；

4 弃上清，T 细胞沉淀用 100mL 新鲜 SDCT 培养基-II（含 5%自体血浆以及 500U/mL 的 IL-2）重悬，并将孵育完毕的 DC 细胞悬液加入 T 细胞悬液中，轻轻混匀后，加入到 T75 培养瓶中，培养瓶竖立于 37℃、5% CO_2 培养箱中培养，12h 后，将培养瓶放平，继续培养；

5 **第 6 天，**补加 100ml SDCT 培养基-II（含 1%自体血浆以及 IL-2 500U/ml），转入细胞培养袋，此时每袋含 200ml 培养液；

6 第 8 天，补加 200mlSDCT 培养基-II(含 1%自体血浆以及 IL-2 500U/ml)，此时每袋含 400ml 培养液；

7 第 10 天，补加 400ml SDCT 培养基-II(含 IL-2 500U/ml)，此时每袋含 800ml 培养液；

8 第 12 天，补加 800ml SDCT 培养基-II(含 IL-2 500U/ml)，分成两袋，此时每袋含 800ml 培养液；

9 第 14 天，每个培养袋均补加 200ml SDCT 培养基-II(含 IL-2 500U/ml)，每袋培养液总体积 1000ml；

10 第 16 天，收获 SDCT 细胞。

本试剂盒中不含 IL-2，需另外购买添加。

【注意事项】

1. 使用本试剂盒时，可先将各因子试剂管低速离心（如 1000g/min 离心 1min 等）或配制试剂时用培养基润洗管壁，确保试剂足量；

2. 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。上述操作步骤 供参考，可根据具体细胞生长状态，调整补液时间和补液量。

【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

本产品仅限科学研究使用，不用于临床诊断与治疗。

【说明书核准日期】2026 年 02 月 24 日

【生产企业】

企业名称：厦门三一造血技术有限公司

生产地址：福建省厦门市海沧区生物医药产业园 B9 栋

电话号码：4001155980

邮箱地址：sales@stemery.cn

网址：http://www.stemery.cn

STEMERY