

# 特异性T-细胞系建立

## 材料

新鲜分离的人外周血单核细胞 (PBMCs), 或冷冻复苏的PBMCs

特异性表位肽200uM

R10: RPMI1640+10% FCS(hyclone)+青链霉素

IL2

## 操作

1. 置PBMCs于15ml 离心管中, 1300rpm×3min离心.
2. 弃上清, 重悬细胞于 R10培养基中, 使细胞浓度达 $2 \times 10^7$ /ml左右, 加入特异性表位肽使其终浓度5-10uM, 于37°C, 5%CO<sub>2</sub>培养1 小时。
3. 加入R10培养基, 调整细胞浓度至 $2 \times 10^6$ cells/ml。转入24孔培养板培养。(此日是第一日)。
4. 培养至第4日加入IL-2 至 20 Unit /ml。
5. 培养期间观察细胞状态和密度, 一旦过密, 适时增加或更换R10/IL2 培养基, 维持其浓度  $1-2 \times 10^6$ cells/ml 。  
通常, 一些特异性CTLs活性在培养7-10日即可被检出。目前检测方法主要有根据刺激肽表位的相应MHC多聚体检测, 或者根据T细胞刺激活化后产生细胞因子的特性, 如IFN- $\gamma$  ELISpot等。