

# T cell proliferation assay

2021.03.01. 구교정

## <준비물>

CD3 Ab(145-2C11), C28(37.51), 96 well plate, Carboxyfluorescein succinimidyl ester(CFSE), CFSE buffer (0.1%BSA solution)

## <방법>

### 1<sup>st</sup> step: Ab coating

1. 96well plate에 CD3를 10ug/ml을 넣고 37°C incubator에서 2hr 또는 RT에서 over night으로 incubation한다.
2. T cell을 넣기 전에 PBS로 plate well을 2번 washing 한다.

### 2<sup>nd</sup> step: T cell 준비

1. Spleen을 갈아서 ACK를 이용해 RBC를 제거한 뒤에 RPMI media에 띄워 100π dish에 띄워 2시간동안 37도씨 incubator에 놓는다.
2. Floating cell만 걸어서 (붙어있는 세포는 APC이며 spleen의 대부분은 naïve T cell임) 모아 준다.
3. CFSE solution으로 washing 한번 한 뒤에 10μM의 CFSE로 30분동안 염색해준다.
4. 염색한 세포를 CD28 (ug/ml)과 함께 plate에 2X10<sup>5</sup>개로 seeding 해준다.
5. 4일 후에 FACS를 통해 분석한다.