**Activación de células T humanas**

* Preparar una dilución de **anti-CD3** y **anti-CD28**, a **5 g/m**L y **2.5 g/mL** respectivamente en PBS estéril.
* Tapizar con esta solución los pozos de placas de cultivo celular e incubar 2 horas a 37°C o a 4°C toda la noche. Si se incuba toda la noche, la placa debe sellarse con Parafilm

Volúmenes/pozo a usar según el tipo de placa:

 96 pozos: 50-100 L

 48 pozos: 250-300 L

24 pozos: 500 L

12 pozos: 800 L

* Una vez transcurrida la incubación, recolectar la solución anti-CD3/anti-CD28. Ésta solución puede reutilizarte 4-5 veces si se mantiene estéril.
* La superficie del pozo tapizado con anticuerpos, no puede secarse. Por ello es conveniente retirar la solución con anticuerpos justo antes de sembrar las células T o como alternativa, añadir un poco de RPMI completo o del medio utilizado hasta que se agreguen las células T.

Concentración/volumen de células a usar según el tipo de placa:

96 pozos: 0.5x106 células/mL en 200 L

48 pozos: 1.5 a 2x106 células/mL en 1000 L

**Activación de células T de ratón**

* Preparar una dilución de **anti-CD3** y **anti-CD28**, a **2 g/m**L y **2 g/mL** respectivamente en PBS estéril.
* Para el resto, proceder como en el caso de células humanas.

Concentración/volumen de células a usar según el tipo de placa:

96 pozos: 0.5x106 células/mL en 200 L

48 pozos: 2x106 células/mL en 500 L

24 pozos: 4x106 células/mL en 1000 L