

# 人骨髓树突状细胞(成熟 DC 细胞)

## 基本信息

产品名称：人骨髓树突状细胞(成熟 DC 细胞)

产品品牌：纪宁生物

组织来源：骨髓

产品规格：5×10<sup>5</sup>cells/T 25 细胞培养瓶

## 细胞简介

人骨髓树突状细胞分离自骨髓。骨髓是机体的造血组织，位于身体的许多骨骼内。成年动物的骨髓分两种：红骨髓和黄骨髓。红骨髓能制造红细胞、血小板和各种白细胞。血小板有止血作用，白细胞能杀灭与抑制各种病原体，包括细菌、病毒等；某些淋巴细胞能制造抗体。因此，骨髓不但是造血器官，它还是重要的免疫器官。

骨髓是存在于长骨(如肱骨、股骨)的骨髓腔和扁平骨(如肋骨)的疏松骨质间的网眼中，是一种海绵状的组织，能产生血细胞的骨髓略呈红色，称为红骨髓。出生时，红骨髓充满全身骨髓腔，随着年龄增大，脂肪细胞增多，相当部分红骨髓被黄骨髓取代，最后几乎只有扁平骨髓腔中有红骨髓。

骨髓 DC 细胞是由骨髓单核细胞诱导而成的；树突状细胞分为成熟树突状细胞和未成熟树

突状细胞，典型的未成熟树突状细胞呈半贴壁生长，在 GM-CSF、IL4 的作用下形成葡萄串样集落，细胞大而形态不规则，表面皱褶多，亦可见少量短刺状突，胞内细胞器丰富并可见吞噬泡，具有较强的迁移能力，伴随有部分未完全诱导成的单核细胞，贴壁形态多样。

而成熟的树突状细胞由未成熟 DC 进一步经 TNF $\alpha$ 、LPS 等诱导而成，多数呈悬浮生长，细胞呈圆形，细胞体积进一步增大，表面大量粗细不等的树枝样突起(高倍镜或者电镜下可观察到)，伴随少量贴壁未成熟细胞或者单核细胞。未成熟 DC 细胞长时间培养也可能导致自发分化成熟。

DC 细胞尚无特异性细胞表面分子标志，主要通过形态学、组合性细胞表面标志、在混合淋巴细胞反应中能激活初始 T 细胞等特征进行鉴定。其中成熟树突状细胞表面高表达主要组织相容性复合物(MHC)以及 CD80、CD86 等共刺激分子，进而激活 T 淋巴细胞，诱导免疫应答，处于启动、调控、并维持免疫应答的中心环节；未成熟树突状细胞具有很强的抗原摄取加工能力，但由于缺乏多种共刺激分子不能使初始 T 细胞活化、增殖产生免疫应答，不能激活 T 细胞的第二信号，可导致 T 细胞无能，从而诱导免疫低反应或抗原免疫特异性耐受。未成熟树突状细胞表面 CD80、CD86、MHC-II 类分子等共刺激分子表达较低，一般在 30% 以下。

## 方法简介

纪宁生物实验室分离的人骨髓树突状细胞(成熟 DC 细胞)采用密度梯度离心法分离骨髓单个核细胞、培养过程添加细胞因子诱导而来，细胞总量约为  $5 \times 10^5$  cells/瓶。

## 质量检测

纪宁生物实验室分离的人骨髓树突状细胞(成熟 DC 细胞)经 CD 86 免疫荧光鉴定、细胞形态等综合鉴定，纯度可达 80% 以上，且不含有 HIV -1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

## 培养信息

培养基：含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等

换液频率：每 2-3 天换液一次

生长特性：半贴半悬浮

细胞形态：圆形，树突状

传代特性：属于高度分化细胞；属于不增殖细胞群

传代比例：不传代

消化液：0.25% 胰蛋白酶

培养条件：气相：空气，95%；CO<sub>2</sub>，5%

人骨髓树突状细胞(成熟 DC 细胞)体外培养周期有限；建议使用纪宁生物配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 使用方法

人骨髓树突状细胞(成熟 D C 细胞)是一种半贴半悬浮细胞, 细胞形态呈圆形, 树突状, 在纪宁生物技术部标准操作流程下, 细胞属于高度分化细胞; 属于不增殖细胞群; 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

## 客户收到细胞后, 请按照以下方法进行操作

1. 取出 T 25 细胞培养瓶, 用 75% 酒精消毒瓶身, 拆下封口膜, 放入 37°C、5% C O 2、饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h, 以稳定细胞状态。
2. 半贴壁半悬浮细胞处理
  - 1) 收集 T25 细胞培养瓶中的培养基至 50ml 离心管中, 用吸管吸取 PBS, 吹洗细胞培养瓶 1-2 次, 收集清洗液; 经 1200-1500rpm 离心 3min, 弃上清, 收集细胞沉淀①。
  - 2) 添加 0.25% 胰蛋白酶消化液 1m L 至 T 25 培养瓶中, 轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后, 吸出多余胰蛋白酶消化液, 37°C 温浴 1-3min; 倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后, 再加入 5ml 完全培养基终止消化。
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀, 收集细胞悬液至离心管中; 经 1200-1500rpm 离心 3min, 弃上清, 收集细胞沉淀②。
  - 4) 吸取 5ml 新鲜完全培养基, 重悬细胞沉淀①、细胞沉淀②, 把①、②混匀。
  - 5) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞, 按实验需求接种于实验器皿内, 然后补充适量新鲜的完全培养基, 置于 37°C、5% C O 2、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养。
  - 6) 待细胞状态稳定后, 用于实验; 可以每 2-3 天换液一次新鲜的完全培养基。
3. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原 I（2-5 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>），多聚赖氨酸 PLL（0.1mg/ml），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

## 注意事项

### 上海纪宁生物细胞仅供科研实验使用

1. 培养基于 4℃ 条件下可保存 3-6 个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 传代培养过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前 3 天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和纪宁生物技术部沟通。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。

