

## 人骨髓树突状细胞(未成熟DC细胞)

Cat NO.: CP-H187A

### 一、产品简介

1. 产品名称：人骨髓树突状细胞(未成熟DC细胞)
2. 组织来源：骨髓
3. 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(如髌骨)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、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- 类分子等共刺激分子表达较低，一般在30%以下。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人骨髓未成熟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。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的人骨髓树突状细胞(未成熟DC细胞)经CD86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。

#### 6. 培养信息：

培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H187A
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	半贴壁半悬浮
细胞形态	圆形、梭形、多角形，形态多样
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(未成熟DC细胞)体外培养周期有限；建议使用普诺赛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。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

人骨髓树突状细胞(未成熟DC细胞)是一种半贴壁半悬浮细胞，细胞形态呈圆形、梭形、多角形，形态多样，在普诺赛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T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、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；
  - 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液1mL至T25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℃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；
  - 4) 吸取5mL新鲜完全培养基，重悬细胞沉淀、细胞沉淀，把、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℃、5%CO<sub>2</sub>、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（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），明胶（ $0.1\%$ ），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

### 四、注意事项

1. 培养基于 $4^\circ\text{C}$ 条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化培养过程中，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，便于和普诺赛技术部沟通；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。
5. 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

