

## 人外周血T淋巴细胞

Cat NO.: CP-H259

### 一、产品简介

1. 产品名称：人外周血T淋巴细胞
2. 组织来源：外周血
3. 细胞简介：

人外周血T淋巴细胞分离自外周血；外周血是除骨髓之外的血液，临床上常用一些方法把骨髓中的造血干细胞释放到血液中，再从血液中提取分离得到造血干细胞，我们把这样得到的干细胞称为外周血干细胞，在二十一世纪初人类开始的生命方舟计划中首次提出外周血这一新概念。外周血单个核细胞（PBMC）即外周血中具有单个核的细胞，包括淋巴细胞和单核细胞。目前，主要的分离方法是密度梯度离心法，因为血液中各有形成分的比重存在差异，因此得以分离出不同的细胞。T淋巴细胞（T-lymphocyte）来源于骨髓的多能干细胞（胚胎期则来源于卵黄囊和肝）。在人体胚胎期和初生期，骨髓中的一部分多能干细胞或前T细胞迁移到胸腺内，在胸腺激素的诱导下分化成熟，成为具有免疫活性的T细胞。成熟的T细胞经血流分布至外周免疫器官的胸腺依赖区定居，并可经淋巴管、外周血和组织液等进行再循环，发挥细胞免疫及免疫调节等功能。T细胞的再循环有利于广泛接触进入体内的抗原物质，加强免疫应答，较长期保持免疫记忆。T细胞的细胞膜上有许多不同的标志，主要是表面抗原和表面受体。这些表面标志都是结合在细胞膜上的巨蛋白分子。多能干细胞转变为淋巴样前体细胞（Lymphoid precursor）迁移至胸腺，在胸腺素的诱导下，经历一系列有序的分化过程，逐渐在胸腺发育成熟为识别各种抗原的T细胞库。T淋巴细胞进入胸腺后首先经历两个阶段：早期T淋巴细胞发育阶段，即始祖CIM和CD8双阴性T淋巴细胞（double negative cell, DN）分化为CD4和CD8双阳性T细胞（double positive cell, DP）；DP细胞分别经历阳性选择阶段和阴性选择阶段获取MHC限制性识别能力和对自身抗原的耐受性，发育为其表面标志为CD4或CD8的单阳性T细胞（single positive cell, SP），迁往周围淋巴器官定居。T细胞是相当复杂的不均一体、又不断在体内更新、在同一时间可以存在不同发育阶段或功能的亚群，但分类原则和命名比较混乱，尚未统一。按免疫应答中的功能不同，可将T细胞分成若干亚群，一致公认的有：1、辅助性T细胞（Helper T cells, Th），具有协助体液免疫和细胞免疫的功能；2、抑制性T细胞（Suppressor T cells, Ts），具有抑制细胞免疫及体液免疫的功能；3、效应T细胞（Effector T cells, Te），具有释放淋巴因子的功能；4、细胞毒性T细胞（Cytotoxic T cells, Tc），具有杀伤靶细胞的功能；5、迟发性变态反应T细胞（Delayed type hypersensitivity T cells, Td），有参与型变态反应的作用；放大T细胞（Ta），可作用于Th和Ts，有扩大免疫效果的作用；6、原始的或天然T细胞（Virgin or Natural T



cells)，他们和抗原接触后分化成效应T细胞和记忆T细胞；7、记忆T细胞（Memory T cell, T<sub>m</sub>），有记忆特异性抗原刺激的作用。T细胞在体内存活的时间可数月甚至数年。其记忆细胞存活的时间则更长。其中，Th细胞又被称为CD4<sup>+</sup>细胞，因为其在表面表达CD4（cluster of differentiation 4）。通过与MHC（主要组织相容性复合体，major histocompatibility complex）递呈的多肽抗原反应被激活。MHC在抗原递呈细胞（antigen presenting cells, APCs）表面表达。一旦激活，可以分泌细胞因子，调节或者协助免疫反应。Tc细胞又称为CD8<sup>+</sup>细胞，其表面表达CD8。这类细胞可以通过MHC I与抗原直接结合。淋巴细胞主要包括T淋巴细胞（CD3<sup>+</sup>），B淋巴细胞（CD19<sup>+</sup>），NK细胞（CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>）。

#### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人外周血T淋巴细胞采用取外周血、通过密度梯度离心法结合磁珠分选制备而来，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外周血T淋巴细胞经CD3免疫荧光鉴定，纯度可达90%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	基础培养基，含IL-2、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H259
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	悬浮
细胞形态	圆形
传代特性	不建议传代
传代比例	不传代
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

人外周血T淋巴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

人外周血T淋巴细胞是一种悬浮细胞，细胞形态呈圆形，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞不建议传代；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. 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PBS清洗细胞培养瓶1-2次，收集清洗液；
- 2) 1200-1500rpm离心8min，弃上清，收集细胞沉淀；
- 3) 加入5mL新鲜完全培养基，用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞；将分散好的细胞调整合适密度接种至培养器皿中，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
- 4) 待细胞状态稳定后，培养观察；之后按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

#### 四、注意事项

1. 培养基于4℃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. 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。
4. 该细胞只可用于科研。

##### 特殊注意事项

5. 此细胞为悬浮细胞，请注意不要直接倒掉，造成损失；悬浮细胞因多数胞体较小，离心收集时，请注意悬液中细胞是否收集完全，可适当加大离心转速200转或增加离心时间3-5min，增加细胞获取量。

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

