

## 小鼠骨髓树突状细胞(未成熟 DC 细胞)

### 基本信息

产品名称 : 小鼠骨髓树突状细胞(未成熟 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

小鼠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(如髂骨) 的稀松骨质间的网眼中，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 -C SF、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 CD 80、CD 86 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 CD 80、CD 86、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小鼠骨髓未成熟 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。

## 质量检测

纪宁生物实验室分离的小鼠骨髓树突状细胞(未成熟 DC 细胞) 经 C D 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 H IV -1、H BV 、H C V 、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、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% 。C O<sub>2</sub>, 5%

小鼠骨髓树突状细胞(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

小鼠骨髓树突状细胞(未成熟 DC 细胞) 是一种半贴半悬浮细胞，细胞形态呈圆形、梭 形、多角形，形态多样，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% 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①。
  - 2) 添加 0.25% 胰蛋白酶消化液 1mL 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% 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 I (2-5 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>)，多聚赖氨酸 PLL (0.1m g/m l)，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°C 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，请及时和我们纪宁系，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。

