小鼠外周血树突状细胞(成熟DC细胞)

Cat NO.: CP-M193B

一、产品简介

1. **产品名称：**小鼠外周血树突状细胞(成熟DC细胞)
2. **组织来源：**外周血
3. **细胞简介：**

小鼠外周血DC细胞分离自外周血，由外周血单核细胞诱导而成的；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，再在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。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TNFα、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。

4. **方法简介：**

普诺赛实验室分离的小鼠外周血成熟DC细胞采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞、培养过程添加细胞因子诱导而来，细胞总量约为5×10^5 cells/瓶。

5. **质量检测：**

普诺赛实验室分离的小鼠外周血树突状细胞(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-M193B
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，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_2，5%

小鼠外周血树突状细胞(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

小鼠外周血树突状细胞(成熟DC细胞)是一种半贴壁半悬浮细胞，细胞形态呈圆形， 树突状，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°C、5%CO2、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°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%CO2、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（2-5μg/cm^2），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。

四、注意事项

1. 培养基于4°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