

## 小鼠骨髓树突状细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-MOU-00153
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	小鼠骨髓树突状 DC 细胞分离自骨髓组织；树突状细胞 (Dendritic cells, DC) 是机体功能最强的专职抗原递呈细胞，它能高效地摄取、加工处理和递呈抗原，未成熟 DC 具有较强的迁移能力，成熟 DC 能有效激活初始型 T 细胞，处于启动、调控、并维持免疫应答的中心环节。DC 的来源有两条途径：①髓样干细胞在 GM-CSF 的刺激下分化为 DC，称为髓样 DC，也称 DC1，与单核细胞和粒细胞有共同的前体细胞；包括朗格汉斯细胞，间皮 (或真皮) DCs 以及单核细胞衍生的 DCs 等，②来源于淋巴样干细胞，称为淋巴样 DC 或浆细胞样 DC，即 DC2，与 T 细胞和 NK 细胞有共同的前体细胞。树突状细胞(DC)表面具有丰富的抗原递呈分子、共刺激因子和粘附因子，是功能强大的专职抗原递呈细胞(APC)。
分离方法及质量控制 methods and quality control	本公司生产的小鼠骨髓树突状细胞采用混合酶灌流消化制备而来，细胞总量约为 5×10 <sup>5</sup> 个/瓶；细胞经 Cytokeratin-18+PAS 糖原染色鉴定，细胞纯度可达 85%以上，且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<p><b>细胞专用培养基组分：</b>500ml 基础培养基；胎牛血清；细胞生长因子；青霉素/链霉素溶液 (备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。)</p> <p><b>推荐专用培养基 小鼠骨髓树突状细胞完全培养基 货号：PCM-M-153</b></p> <p><b>0.05%消化液货号：CSP048</b></p> <hr/> <p><b>无血清细胞冻存液：CSP077</b></p> <p><b>温度：37°C</b> <b>气相：95%空气，5%二氧化碳</b></p>
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>2.将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量：5~7ml) ；</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要 (如使用不透气瓶)，松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>

	<b>小鼠骨髓树突状细胞不建议传代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。</b>
细胞消化	<p>收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>静置后，显微镜下观察细胞状态，拍照记录细胞的贴壁情况，漂浮的细胞需离心收集后在离心管消化(脱落细胞处理方式)，贴壁细胞也需消化后与脱落的细胞合并一起后重新接种。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37°C 消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，接种于孔板中(提前多聚赖氨酸包被孔板)；</li> <li>5. 待细胞贴壁后可用于后续相关实验。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察；</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 0.05% 胰酶/EDTA 消化液 (推荐货号: CSP048) ；</li> <li>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</li> <li>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</li> </ol>
保存 Storage	保存条件：液氮长期存储
供应限制 Product Use	仅限科研，不可用于临床
安全性 Safety	<b>所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护</b>
常见问题及解决方案 Questions and solutions	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照 (多倍数多视野)，包括染色照片，并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min)，加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min)，重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
备注 additional information	<p><b>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。</b></p> <p><b>原代细胞体外培养周期非常有限，请尽快及时安排实验。</b></p> <p><b>建议中乔新舟配套的专用细胞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。</b></p>