

# 人外周血单核细胞

## 基本信息

产品名称：人外周血单核细胞

产品品牌：纪宁生物

组织来源：外周血

产品规格：5×10<sup>5</sup>cells/T 25 细胞培养瓶

## 细胞简介

人外周血单核细胞分离自外周血。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。单核细胞起源于骨髓中的造血干细胞，并在骨髓中发育。当它们从骨髓进入血液时仍然是尚未成熟的细胞。

与其他血细胞比较，单核细胞内含有更多的非特异性脂酶，并且具有更强的吞噬作用。单核细胞在血液中停留 2-3 天后迁移到周围组织中，细胞体积继续增大，直径可达 50-80μm，细胞内所含的溶酶体颗粒和线粒体的数目也增多，成为成熟的细胞。固定在组织中的单核细胞称为组织巨噬细胞，它们经常大量存在于淋巴结、肺泡壁、骨髓、肝和脾等器官。激活了的单核细胞和组织巨噬细胞能生成并释放多种细胞毒、干扰素和白细胞介素，参与机体防卫

机制，还产生一些能促进内皮细胞和平滑肌细胞生长的因子。在炎症周围单核细胞能进行细胞分裂，并包围异物。

## 方法简介

纪宁生物实验室分离的人外周血单核细胞采用密度梯度离心法结合差速贴壁法制备而来，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人外周血单核细胞经 CD 14 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。

## 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：半贴壁半悬浮

细胞形态：圆形、巨噬细胞样

传代特性：不增殖。不传代

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%

人外周血单核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

人外周血单核细胞是一种半贴壁半悬浮细胞，细胞形态呈圆形、巨噬细胞样，在纪宁生物技术部标准操作流程下，细胞不增殖。不传代。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 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% C O 2、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于 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 1m L 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% C O 2、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（ $2-5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸 PLL（ $0.1\text{mg}/\text{m}^2$ ），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  $4^\circ\text{C}$  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。