

DC 细胞培养试剂盒说明书

【产品名称】DC 细胞培养试剂盒

【产品货号】MCF-002

【包装规格】1 支试剂 A (0.5ml/支)、1 支试剂 B (0.5ml/支)、1 支试剂 C (0.5ml/支)。

【预期用途】

本细胞培养试剂盒用于 DC 细胞诱导，经 7 天培养，50ml 血液分离的 DC 细胞扩增总数可达 1000 万，DC 表型 DC 表型 CD14-CD11c+>90%，CD86+>90%，CD14+/CD11c+<2%，细胞活性>95%。

【储存条件及有效期】

储存于-20℃，有效期 12 个月。

【样本要求】

本试剂盒要求人新鲜外周血或新鲜脐带血分离获得的单个核细胞，且血常规检测中淋巴细胞数量在正常范围内，血液收集时应无菌操作且处理和运输过程中避免冷冻。**特别要求血液采集抗凝剂不能含有 EDTA 和枸橼酸钠，建议用肝素抗凝剂。**

【使用方法】

1. 淋巴细胞分离

- 1) 提前 30min 将淋巴细胞分离液从 4℃ 冰箱中取出置于室温，待温度升至室温后使用。
- 2) 将新鲜的肝素抗凝的患者外周血以 700g 离心 20min (降速最慢)，收集上层血浆，56℃ 灭活 30min，然后 4℃ 放置 15min，最后 2000g 离心 15min 后吸取上层血浆备用。
- 3) 除去血浆后的下层血液加入 DPBS 至原血液体积，混匀，沿管壁缓慢加至与血液等量的淋巴细胞分离液上，注意保持清楚的界面，以 800g 离心 15min (缓升缓降) 后，离心管中由上至下分为四层。第一层为 DPBS 层，第二层为环状乳白色淋巴细胞，第三层为透明分离液层，第四层为红细胞层。
- 4) 收集第二层环状乳白色淋巴细胞加入到一个 50ml 离心管中，补加 DPBS 至 50ml，600g 离心 10min，弃上清液，再用 50ml DPBS 重悬细胞，500g 离心 10min，弃上清液。

2. DC 细胞培养瓶预处理：血浆分离出来后，取 10ml 未灭活的血浆加到一个 T75 培养瓶，37℃ 条件下放置 1 小时。

3. DC 细胞培养

- 1) 淋巴细胞分离完成后且包被达到 1h 后，吸出预处理的 T75 培养瓶中血浆。
- 2) 用 20ml 淋巴细胞培养液 (仅含有庆大霉素的培养液) 重悬上述收集的淋巴细胞，转移到已经预处理的 T75 培养瓶中，置于恒温培养箱 (37℃、5.0% CO₂、饱和湿度) 中培养 2.5-3 小时。
- 3) 培养 2.5-3 小时后取出培养瓶，弃去上清。
- 4) 培养瓶中补加 20ml 淋巴细胞培养液 (仅含有庆大霉素的培养液)，加入 2ml 灭活的血浆，同时加入一支试剂 A 和一支试剂 B，置于恒温培养箱中培养。
- 5) 第 3 天，往培养瓶中补加一支试剂 C (注：如若要加入肿瘤抗原则与试剂 C 同时加入)，取样送检真菌、细菌、支原体。

4. DC 细胞收获

第 7 天，将 DC 细胞用胰酶消化法收集，然后以 1000rpm×5min 离心，用生理盐水洗涤细胞 2 次，细胞计数，用生理盐水重悬细胞制成终制品，封装。

【产品性能指标】

1. 外观：试剂盒标签、各组分标签清晰，易识别，各组分齐全，液体无渗漏。
2. 细菌内毒素： $<0.5\text{EU/ml}$ 。
3. 细菌：无细菌检出。
4. 真菌：无真菌检出。
5. 支原体：无支原体检出。
6. 细胞生长测试：DC细胞比例 $\geq 80\%$ ，细胞活性 $>95\%$ 。

【注意事项】

1. 各试剂应置于规定储存条件保存，避免微生物的污染。
2. 使用前，试剂盒试剂从 -20°C 条件下取出，置于 4°C 条件下缓慢解冻。
3. 使用前，试剂盒试剂需瞬时离心。
4. 不同批次试剂盒中各组分不可互换使用。
5. 严禁使用过期产品。

【标识的解释】 无

【参考文献】 Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, Banchereau J. GM-CSF and TNF- α cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. Nature. 1992;360(6401):258-61.

【基础信息】

生产企业名称：深圳市默赛尔生物医学科技发展有限公司

生产地址：深圳市龙华新区龙华街道清祥路清湖工业园宝能科技园6栋A座15楼ABCDEF单位

联系方式：0755-86548612

网址：<http://www.morecell.com.cn/>



默赛尔
BIOMEDICAL