

DC 细胞试剂盒使用说明书

DC Cell Kit

(货号：672070)

1. 产品介绍

- 1.1 本产品是一款 DC 细胞高效诱导的试剂盒。外周血/脐带血中的 PBMC 细胞经本试剂盒处理后，在 7-8 天左右可获得 DC 细胞。
- 1.2 本试剂盒适用于人外周血/脐带血和经过血细胞单采仪处理获得的 PBMC 等来源的样品。
- 1.3 本试剂盒是在符合相关规范的无菌环境中生产，并已通过了严格的细菌、真菌、支原体、病毒(HIV、HAV、HBV、HCV)、内毒素检测。本试剂盒不含血浆、动物源成分以及其它不明确成份。

2. 材料和设备

2.1 试剂盒套装组成

套装内容	数量	单位	保存条件	产品性状
DC-A (672071)	1	支	-20℃	液体
DC-B (672072)	1	支	-20℃	液体

2.2 用户需要自行准备的试剂耗材

0.4%苔盼蓝溶液、生理盐水、人淋巴细胞分离液、肝素钠采血管/100ml 采血袋、PBS、75cm² 悬浮培养瓶、15mL/50mL/250mL 离心管、移液管、5mL 和 50mL 无菌注射器等。

3. 样本采集及运输要求

- 3.1 外周血样本采集应为肝素钠采血管，脐带血优先选择 100ml 采血袋，采集过程应严格规范无菌。实际采血总量应大于 50ml，采集后血液与抗凝剂应及时混匀。
- 3.2 样本运输条件为 18-25℃，24 小时处理样本。

4. PBMC 的分离和血浆制备（以 50ml 样本 THERMO ST16 离心机为例）

- 3.3 将 50ml 血液样本均分至 2 个 50ml 离心管，3000rpm，10min，取上层血浆转移至新的离心管，56℃，30min 灭活，4℃静置 10min，3000rpm，10min，用吸管将上清液转移至新的离心管中，-20℃保存，使用前取出；
- 3.4 剩下细胞加入生理盐水至原体积，充分混合均匀，转移至 2 个装有 15ml 淋巴细胞分离液的 50ml 离心管中，室温下 1800rpm，30min；

3.5 取出 PBMC 至新的 50ml 离心管；加入生理盐水至 45ml，1600rpm，8min；

3.6 去上清，加入生理盐水至 45ml，充分混匀，取样计数；

3.7 1400rpm，10min 收集 PBMC。

5. 培养基使用说明：

每瓶培养基 {CIK Cell Culture Medium (662071)} 加入一支 CIK-C (662074)，混匀，使用前恢复至室温。

6. 细胞接种

6.1 用培养基 662071（不含 662074）调整细胞浓度为 $2-3 \times 10^6/\text{ml}$ ，铺入 TC 处理透气细胞培养瓶中，水平放入 37°C ，5% CO_2 细胞培养箱内；

6.2 3 小时后取出，沿培养瓶反面将细胞悬液全部倒入离心管中（注意轻拿轻放）；

6.3 用培养基 662071（不含 662074）刷洗培养瓶，涮洗液也倒入离心管中；

6.4 离心管中细胞悬液做 CIK 培养（详细步骤参照 CIK 试剂盒说明书）；

6.5 取 12ml 已配置培养基 662071（含 662074）、0.5ml 自体血浆和一支 DC-A (672071)混匀沿原培养瓶反面加入；

7. 换液及收集

6.6 D3，用已配置培养基 662071（含 662074）全部换液，并加入 0.5ml 自体血浆；

6.7 D5，用已配置培养基 662071（含 662074）全部换液，并加入 0.5ml 自体血浆；

6.8 D6-D7，向培养瓶中添加 DC-B (672072)混匀；

6.9 DC 成熟后（一般约 24h），收集 DC 细胞悬液转移至 CIK 细胞悬液中共培养；

6.10 后续培养参考 CIK 试剂盒说明书。