

加速巨噬细胞研究

巨噬细胞是先天免疫系统的细胞，能够通过吞噬作用以及它们产生的免疫调节因子对感染或损伤做出反应。巨噬细胞，如“经典活化”的M1巨噬细胞和“替代性活化”的M2巨噬细胞，因其在免疫调节、组织修复和肿瘤生物学中的作用而成为备受关注的细胞类型。STEMCELL Technologies可以通过一系列产品生成单核细胞衍生的巨噬细胞，以用于进一步的下游应用。

使用ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基生成活化的巨噬细胞

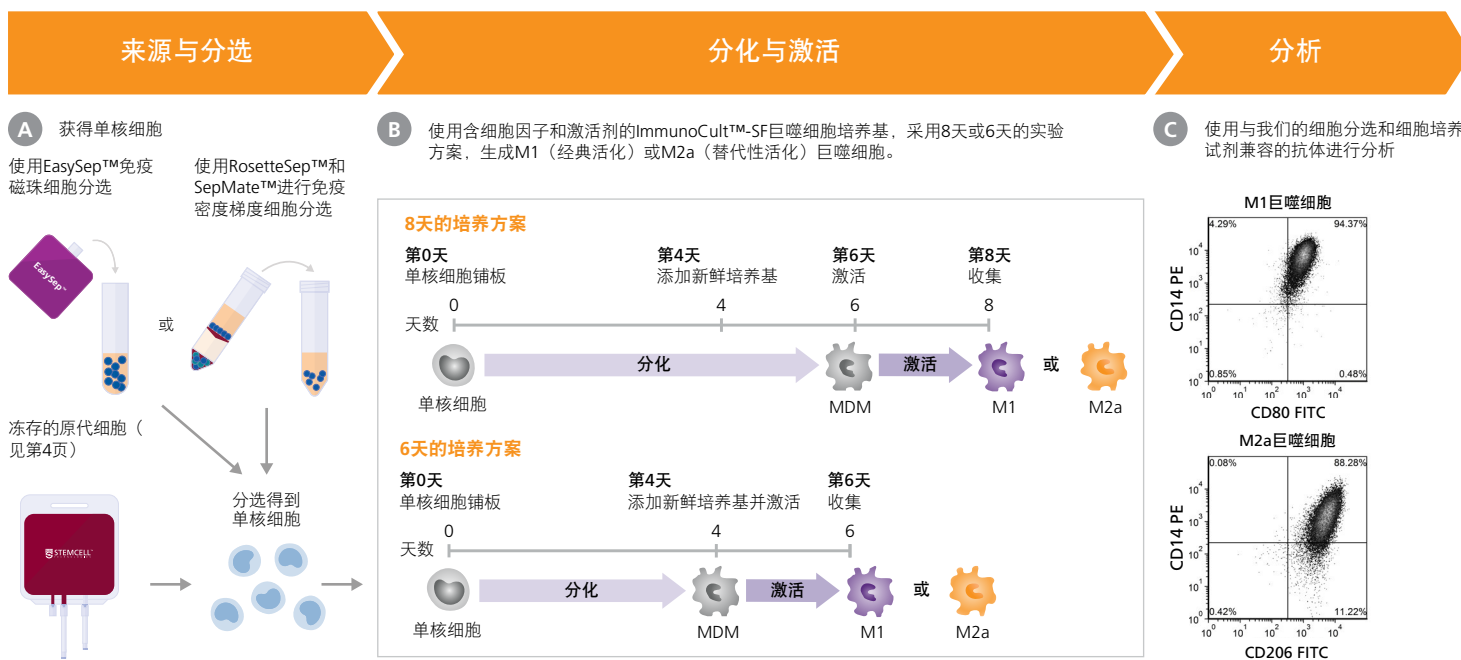


图1. 使用STEMCELL产品生成M1或M2a活化巨噬细胞的工作流程

(A) 使用EasySep™负选试剂盒或RosetteSep™富集抗体混合物从人全血或白细胞单采样本中分离单核细胞。(B) 通过在ImmunoCult™-SF巨噬细胞分化培养基（添加了人重组M-CSF（产品号 #78057）的ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基（产品号 #10961）中培养细胞，将分离的单核细胞诱导生成单核细胞衍生的巨噬细胞（MDM）。根据我们的8天培养方案，在第4天添加新鲜的ImmunoCult™-SF巨噬细胞分化培养基，并在第6天使用合适的激活剂激活特定的巨噬细胞（IFN-γ+LPS用于激活M1，IL-4用于激活M2a）。在第8天收集完全成熟的M1或M2a巨噬细胞，用于下游应用。通过我们的6天培养方案，巨噬细胞激活可以与第4天的培养基添加步骤同时进行，并于第6天收集细胞。(C) 使用STEMCELL抗体和ELISA试剂盒评估活化巨噬细胞的表型和功能。

为什么使用ImmunoCult™来生成巨噬细胞？

无血清。培养基不含血清且不需要添加血清。

优化的配方。含有经预先测试过的BSA标准配方，支持巨噬细胞分化和激活。

一致性。获得具有所需表型的高得率巨噬细胞。

灵活。培养基可与多种激活剂一起使用，通过8或6天的培养方案获得所需的巨噬细胞亚型。



1 使用EasySep™或RosetteSep™分离单核细胞

使用EasySep™免疫磁珠分离细胞

无需分选柱即可从几乎任何的样本来源中分离单核细胞，包括单个核细胞悬液和白细胞单采术样本。

使用RosetteSep™通过密度梯度离心分离细胞

通过在标准密度梯度离心步骤从全血中分离单核细胞。

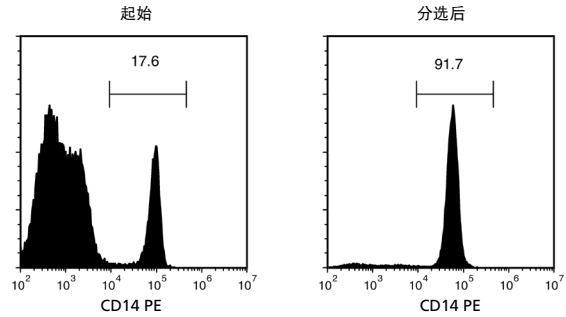


图2. 使用EasySep™人单核细胞分选试剂盒通过负选分离高纯度的单核细胞（产品号 #19359）

起始样本为人全外周血制备的单个核细胞，分选后的单核细胞含量（CD14⁺CD45⁺）通常为 $89.7 \pm 3.4\%$ （以CD45设门，平均值 \pm 标准偏差，n = 10）。



2 使用ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基将单核细胞分化为具有所需表型的M1和M2a巨噬细胞

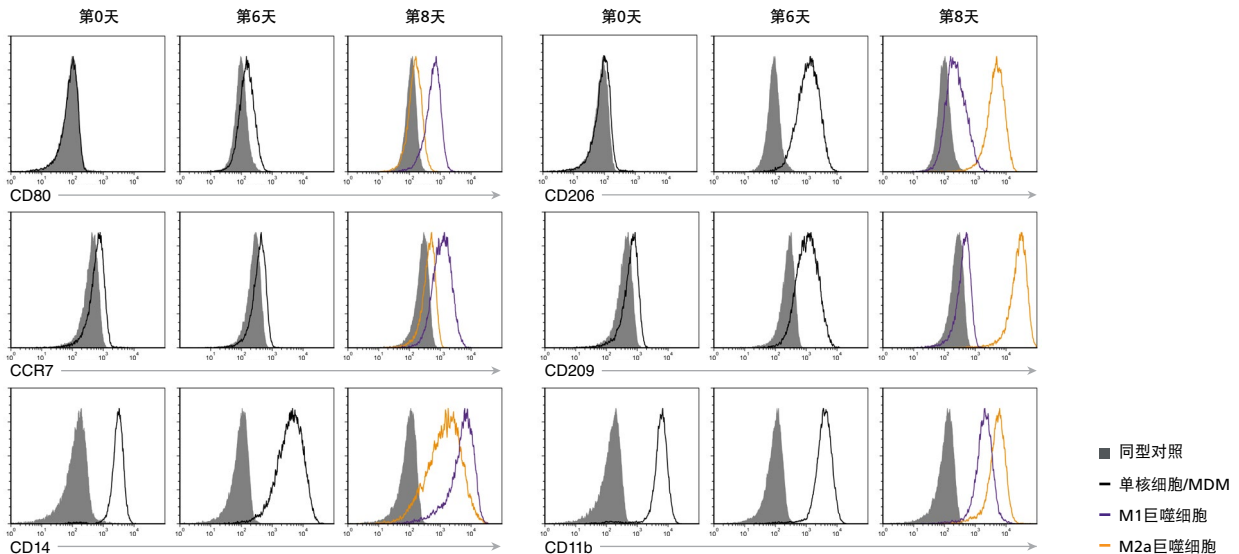


图3. 使用ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基生成的M1和M2a活化巨噬细胞具有所对应的表型

EasySep™分离的单核细胞在ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基中培养，如图1B所示，使用8天的培养方案。根据单核细胞和巨噬细胞标志物的表达，使用流式细胞术分析分离的单核细胞（第0天）、单核细胞衍生的巨噬细胞（MDM；第6天）以及分别用IFN- γ +LPS或IL-4激活的M1或M2a巨噬细胞（第8天），并使用同型对照（灰色）进行对比。第8天，M1巨噬细胞（紫色）表达高水平的CD80和CCR7，而M2a巨噬细胞（橙色）上调CD206和CD209表达。在培养期结束时，M1和M2a巨噬细胞继续表达不同水平的CD14和CD11b。

3 使用ImmunoCult™-SF获得高得率的活化的巨噬细胞

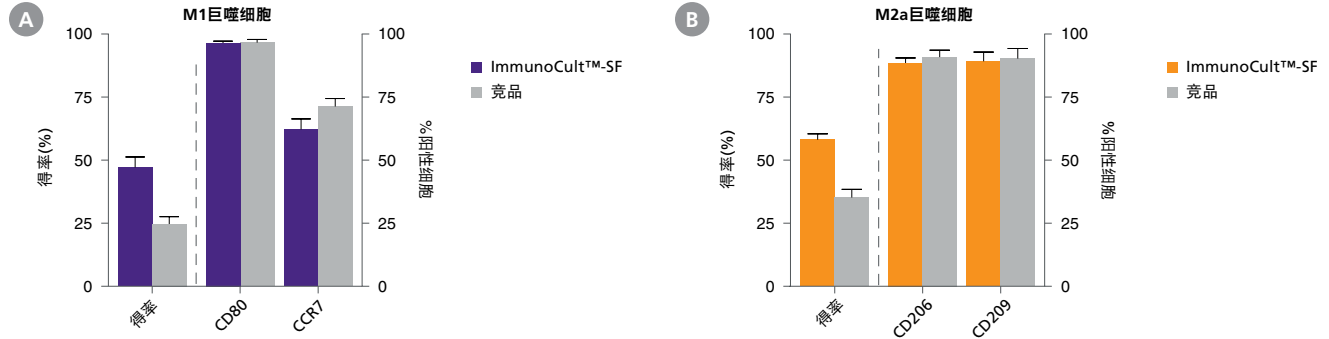


图4. 与其他竞品无血清培养基相比，ImmunoCult™-SF支持更高的M1和M2a巨噬细胞得率

单核细胞在ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基或竞品的无血清巨噬细胞培养基中培养，并使用8天培养方案分化为巨噬细胞，如图1B所示。在第8天，收集巨噬细胞，通过流式细胞术计数和分析，以评估巨噬细胞标志物CD80、CCR7、CD206或CD209的表达。(A) M1巨噬细胞为CD80⁺CCR7⁺，而(B) M2a巨噬细胞显示为CD206⁺CD209⁺表型。巨噬细胞得率以第8天总活细胞相对于第0天初始单核细胞数的百分比表示。ImmunoCult™-SF中的巨噬细胞得率显著高于竞品的无血清培养基 (P < 0.05, 配对t检验; 平均值±标准误差; n = 18-19)。

4 评估使用ImmunoCult™-SF生成的活化的巨噬细胞的功能

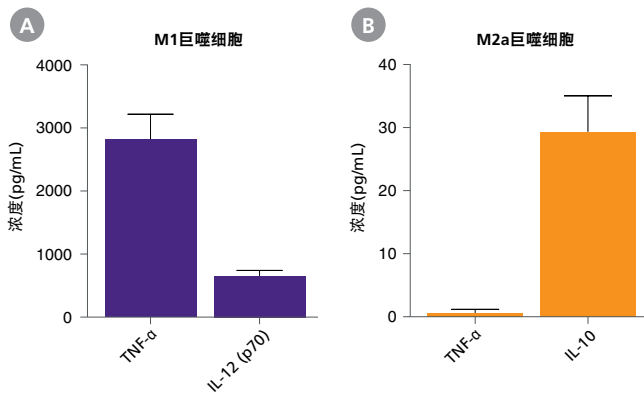


图5. 使用ImmunoCult™-SF生成的活化的巨噬细胞可分泌细胞因子

使用ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基生成巨噬细胞，并在8天的培养方案中使用IFN-γ+LPS (M1) 或IL-4 (M2a) 激活。第8天，收集M1或M2a巨噬细胞培养的上清液，并通过ELISA检测TNF-α、IL-12 (p70) 或IL-10的浓度。(A) M1巨噬细胞分泌2821 ± 396 pg/ml的TNF-α (n = 24) 和656 ± 86 pg/mL的IL-12 (p70) (n = 25)。(B) M2a巨噬细胞产生29 ± 6 pg/mL的IL-10 (n = 21)，但不产生TNF-α (低于检测限, n = 20)。数据代表平均值±标准误差。

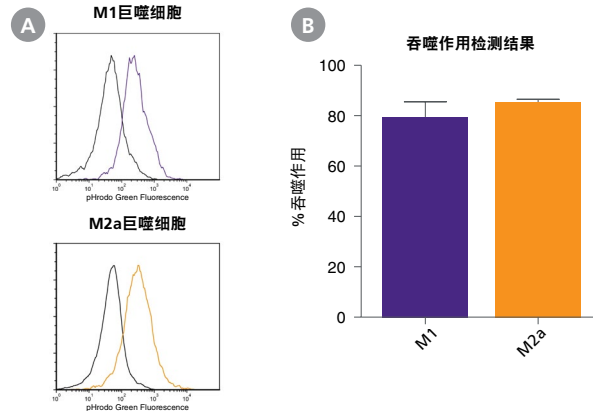


图6. 使用ImmunoCult™-SF生成活化的巨噬细胞表现出强大的吞噬活性

使用对pH敏感的pHrodo® Green大肠杆菌生物颗粒评估M1和M2a巨噬细胞的吞噬活性。M1和M2a巨噬细胞根据图1B中描述的培养方案生成，并与pHrodo®大肠杆菌生物颗粒在37°C下孵育1小时，而阴性对照样本在4°C下孵育。(A) 然后通过流式细胞术检测M1和M2a巨噬细胞 (分别为紫色和橙色直方图) 摄入的大肠杆菌颗粒与其各自的阴性对照 (黑色直方图) 的荧光强度。(B) 显示了M1和M2a巨噬细胞的平均吞噬作用 (n = 3; 平均值±标准误差)。

用于巨噬细胞研究的产品

	产品	产品号 #	描述
来源	原代细胞*		从符合您供体规格的预分离的冻存单核细胞中进行选择。
	冻存的人外周血单个核细胞 (MNCs)	70025	www.stemcell.com/PrimaryCells
	冻存的人外周血单核细胞	70034	*某些冷冻产品仅在特定地区提供。请联系info.cn@stemcell.com了解更多信息。为了在此应用中获得最佳细胞得率，我们建议从新鲜的血液制品中分离单核细胞。
细胞分选	免疫磁珠细胞分选		
	EasySep™人单核细胞分选试剂盒	19359	使用快速、简单且无柱的免疫磁珠或免疫密度细胞分选平台从全血或PBMCs中分离单核细胞。
	EasySep™不含CD16去除的人单核细胞富集试剂盒	19058	<ul style="list-style-type: none"> 快速。只需12.5分钟即可完成细胞分选。 灵活。样本体积可从0.1 – 40 mL。 温和。无柱系统，避免了一次性耗材。 兼容。磁珠不会干扰下游应用。
	EasySep™人单核细胞分选试剂盒	19669	
	EasySep™人CD14正选试剂盒II ¹	17858	
	免疫密度梯度细胞分选		
	RosetteSep™人单核细胞富集抗体混合物	15028	www.stemcell.com/CellSep
	SepMate™-50	85450	¹ 为了在本应用中获得最佳细胞得率，我们建议使用负选产品（例如产品号 #19359、产品号 #19058、产品号 #19669 和产品号 #15028）分离单核细胞。
	Lymphoprep™密度梯度离心液	07801	
	分化与激活	ImmunoCult™-SF巨噬细胞培养基	10961
重组人M-CSF		78057	<ul style="list-style-type: none"> 无血清。培养基不含血清且不需要添加血清。 优化的配方。使用标准化的配方和方案支持M1和M2a巨噬细胞分化和激活。 一致性。得到具有所需表型的高得率细胞。 灵活。配合使用合适的细胞因子或刺激物激活时，可用于生成各种巨噬细胞亚型。
重组人IFN-γ		78020	
重组人IL-4		78045	
重组人GM-CSF		78015	
重组人IL-10		78024	
分析	抗人CD14抗体，克隆M5E2	60004	
	抗人CD14抗体，克隆MoP9	60124	使用经过验证可与我们的细胞分选试剂和细胞培养基产品配合使用的抗体来分析细胞。
	抗人CD45抗体，克隆HI30	60018	www.stemcell.com/Antibodies
	抗人CD32抗体，克隆IV.3 (FcR阻断剂)	60012	
	人IL-12 (p70) ELISA试剂盒	02014 02015	通过准确定量感兴趣的细胞因子来评估细胞激活和/或分化。
	人IL-10 ELISA试剂盒	02012 02013	www.stemcell.com/ELISA

其他产品

产品	产品号 #	描述
ACCUTASE™	07920	Accutase™是一种蛋白水解酶和胶原蛋白分解酶溶液，优化用于将M1巨噬细胞从粘附表面分离。
CryoStor® CS2	07932	在无动物成分和无血清细胞的cGMP级冻存液中冻存细胞。
CryoStor® CS5	07933	<ul style="list-style-type: none"> 高质量。cGMP标准，可供临床应用。 配方确定。预先配制有2%、5%或10% USP级DMSO。 高细胞活力。可减轻冻存和复苏过程中温度引起的分子应激反应。
CryoStor® CS10	07930	www.stemcell.com/Cryopreservation

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2024。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientists、EasySep、ImmunoCult、SepMate、RapidSpheres、RosetteSep和RoboSep均是STEMCELL Technologies Inc.的注册商标。Lymphoprep是AXIS-SHIELD的注册商标。CryoStor是BioLife Solutions的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产

品。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

产品仅供研究使用。除非另有说明，否则不用于人类或动物诊断或治疗。有关STEMCELL质量的其他信息，请参考WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。



微信ID: STEMCELLTech



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050 E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM 网站: WWW.STEMCELL.COM

文档号 #27057CN 版本 1.2.1 2024年02月