

1. 用1640完全培养基 (1640培养基+10%FBS+双抗) 重悬细胞至 1×10^7 /ml, 加入终浓度为50 ng/ml的Human M-CSF, 24孔培养板中加入1 ml细胞悬液, 此后隔天半量换液, 诱导分化6-7天, 细胞分化成M0;
2. M1方向分化: 分化6-7天后, 加入100 ng/ml的LPS和20 ng/ml的Human IFN- γ , 同时需加入Human M-CSF, 极化24小时;
3. M2方向分化: 分化6-7天后, 加入20 ng/ml的Human IL-4或者Human IL-10, 同时需加入Human M-CSF, 极化24小时;
4. 细胞鉴定: 购买相应的流式抗体进行染色鉴定。

细胞分化所需的细胞因子:

生产商	产品编号	产品名称	产品规格
PeproTech	300-25	Human M-CSF	2 μ g/10 μ g/50 μ g/100 μ g/250 μ g/500 μ g/1000 μ g
PeproTech	200-04	Recombinant Human IL-4	5 μ g/20 μ g/50 μ g/100 μ g/250 μ g/500 μ g/1000 μ g
PeproTech	200-10	Recombinant Human IL-10	2 μ g/10 μ g/50 μ g/100 μ g/250 μ g/500 μ g/1000 μ g
PeproTech	300-02	Human IFN-gamma	20 μ g/100 μ g/250 μ g/500 μ g/1000 μ g

参考文献:

1. Zajac E, Schweighofer B, Kupriyanova TA, et al. Angiogenic capacity of M1- and M2-polarized macrophages is determined by the levels of TIMP-1 complexed with their secreted proMMP-9. *Blood*. 2013;122:4054-4067.
2. Gao CH, Dong HL, Tai L, Gao XM. Lactoferrin-Containing Immunocomplexes Drive the Conversion of Human Macrophages from M2- into M1-like Phenotype. *Front Immunol*. 2018;9:37.



苏州中维鑫创生物医药科技有限公司
 电话: 0512-6789 5080
 企业QQ: 3440695713
 邮箱: info@zvxcbio.com
 地址: 江苏省苏州市工业园区裕新路168号脉山龙大厦2幢

人巨噬细胞分化及鉴定

人单核细胞获取

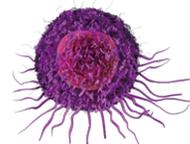
1. PBMC分离:

采集外周血于EDTA抗凝采血管中，将血液混匀于无菌50 ml管中，PBS 1:1稀释血液标本；取干净的50 ml管，淋巴细胞分离液、血液、PBS以1:1:1加入，每管15 ml分离液，用10 ml移液管，沿管壁缓缓加入上述血液稀释液至45 ml刻度处，切忌分离液液面波动；室温500 g离心30 min，升降速度分别调至2和0。根据血液中各组成成分密度的不同，离心后，50 ml管内由上而下依次为淡黄色血浆层，单个核细胞白膜层，透明分离液层，及最下方的红细胞层；用移液管轻轻吸去上层血浆层，并将白膜层转移至新的50 ml管中，同时加入PBS至50 ml，300 g离心10 min；离心结束后弃上清，弹散管底沉淀，再加入PBS至50 ml，300 g离心10 min；离心结束后弃上清，将细胞沉淀弹散。

2. 单核细胞纯化

单核细胞纯化采用美天旒生物提供的单核细胞阳选试剂盒或stemcell提供的单核细胞阳性分离试剂盒，具体分离方案参考相应的说明书。

巨噬细胞诱导分化



人的巨噬细胞包括经典活化型巨噬细胞(Classical activated macrophages, M1)及替代活化型巨噬细胞(Alternatively activated macrophages, M2)，显微镜下观察完成分化的细胞形态，M1细胞贴壁最牢，呈梭形；M2细胞贴壁能力较M1差，圆形或椭圆形；DC细胞不贴壁，成簇生长。

