

# 2021.8.26-实验记录：分离小鼠骨髓中的DC细胞和脾脏中的T细胞，裂红，计数，混合培养

---

分离步骤基本与【2021.8.10-实验记录：分离骨髓中的DC细胞和脾脏中的淋巴细胞】相同

## 裂红

---

对获得的细胞进行第一次离心后，吸去上清，加入 2-3ml 裂红液，吹打混匀，裂红 2min 左右。

反应结束，加入裂红液体积 5 倍左右的 PBS，即补足到 10ml。

400g 离心 10min，吸去上清。

加入 10ml 左右的 PBS，吹打混匀。

400g 离心 10min，吸去上清。

## 计数

---

如果离心管底部的细胞沉淀较多（例如从脾脏中分离出来的细胞），可用 2ml PBS对细胞进行重悬，然后吸取 10 $\mu$ l，与10 $\mu$ l 染液在细胞计数载玻片上混匀。（如果离心管底部的细胞沉淀较少，例如从骨髓中分离出来的细胞，可用 1ml PBS对细胞进行重悬。）

将共 20 $\mu$ l 细胞及染液加入载玻片的加样孔，然后上机计数，记录活细胞浓度。

不要使用mini cell count软件！

## 混合培养

---

一般对 T细胞 和 DC细胞 进行单独培养，因本次实验需要，故对 T细胞 和 DC细胞 进行混合培养。

本次实验中，混合培养的浓度比例是 T:DC = 10:1

对细胞总量不做要求。由于本次实验使用 10ml 细胞培养皿，该类培养皿要求细胞总量少于  $2 \times 10^6$  个，故确保每皿中的细胞总量少于此数目即可。

附注：本次实验未加入集落刺激因子。