

新鲜PBMC使用说明书

外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mono-nuclear Cell,PBMC)是外周血中具有单个核的细胞,包括淋巴细胞、单核细胞和树突状细胞等。这些细胞是免疫系统的重要组成部分,参与体液免疫和细胞介导免疫。外周血单个核细胞在微生物学、病理学、肿瘤学、疫苗研发、器官移植以及再生生物学等研究和临床上被广泛使用。外周血单个核细胞通过密度梯度离心纯化,可采用新鲜或低温保存的形式。

新鲜PBMC采用2-8°C恒温箱运输,可以尽可能小地减少细胞损伤,离体时间短,保证细胞的活力与功能性。请采用正确快速的操作手法以确保细胞有更高的存活率。

● 试剂耗材

缓冲液: PBS或DPBS、0.5% HSA或FBS(比例视需求可调整)

其他: 75% 酒精、50ml离心管、巴氏滴管、一次性无菌薄膜PE手套

● 设备

恒温水浴锅、生物安全柜、液氮罐、微量移液器、离心机

● 操作步骤

- 1. 从恒温箱取出装有新鲜PBMC的离心管,用75%的酒精进行**消毒**,无菌纸擦拭,**迅速**转移至 生物安全柜中。
- 2. 轻轻上下颠倒混匀,室温条件下离心400g、10min。

【注】不同实验室可根据细胞用途适当调整离心力或时间,如用作培养,可推荐50ml离心管 300g 10min, 注意会微损失细胞数量。不可用5min时间,损失严重(PBMC细胞较小)。

妙顺(上海)生物科技有限公司

地址:中国|上海|浦东新区盛夏路169号A栋711室|邮箱:techserv@miles-bio.com

电话: 86-21-64169736 网站: www.miles-bio.com



- 使用巴氏吸管吸弃上清,待离心管中剩余1-2ml上清时,改用移液枪吸弃(无菌操作,避免吸到细胞)。
- 4. 加入1-2ml 缓冲液,**轻缓吹散**细胞,再加入适量缓冲液,定容至所需体积。(一次性加较 多缓冲液可能会吹打不匀或成团较多,故选择分次加液)

规格	50M	100M
定容体积	10ml	20ml
浓度范围	5-7×10^6 cells/ml	

5. 取适量细胞进行细胞计数与活力检测。

【注】使用**低吸附**材质的容器,推荐用**一次性无菌薄膜手套**,**先取染液**,再取等体积细胞悬液混匀,取样 计数。

- 6. 根据实验需求将细胞悬液转移到适当的培养皿或者培养瓶中,以待进一步使用。
- 培养基请参考下表,不同实验所需添加因子有差异,请依据实验需求调整培养方案。

Cell Type	Media	Cytokine
Mononuclear cells	RPMI* AIMV	
CD3+ Pan T cells	RPMI* AIMV	IL-2
CD4+ T cells	RPMI* AIMV	IL-2
CD8+ T cells	RPMI* AIMV	IL-2
CD19 ⁺ B cells	DMEM RPMI* a -MEM X-VIVO	
NK cells	DMEM RPMI* SCGM Medium	IL-2 IL-15
Neutrophils	RPMI 1640 (supplemented)	G-CSF GM-CSF
CD34 ⁺ stem/progenitor cells	RPMI 1640 (supplemented)	SCF IL-3 IL-6
CD14 ⁺ Monocytes	DMEM RPMI*	GM-CSF (M1 MØ) M-CSF (M1 MØ) IL-4 + GM-CSF (dendritic cells)
Dendritic cells	RPMI*	IL-4 GM-CSF

妙顺(上海)生物科技有限公司

地址:中国|上海|浦东新区盛夏路169号A栋711室|邮箱:techserv@miles-bio.com

电话: 86-21-64169736 网站: www.miles-bio.com