

外周血单个核细胞 (PBMC)

Peripheral Blood Mononuclear Cell

(仅用于科学研究)

PBMC 细胞是从全血或者脾脏中通过研磨、过滤、梯度离心等方法分离得到细胞。脾脏是体内最大的储血器官，脾脏中 PBMC 与全血中的 PBMC 在细胞种类、细胞比例上略有差异，但不影响实验。

为确保实验人员安全及生物安全，请在接触本产品及其废弃物时佩戴防护口罩、乳胶手套以及防护眼罩（复苏时）等必要的防护用品，严格按照本说明书操作，实验结束后所产生的废弃物按照国家、省、市级相关法律法规，进行无害化处理，确保生物安全。

I 试剂与材料

- PBMC (Cat# LV-PBMC001/2/3)
- 37°C 恒温水浴锅
- 生物安全柜
- 15ml 离心管
- 37°C/5% CO₂ 培养箱
- 宽口滴管和宽口移液枪头
- 移液枪
- 75% 酒精

II 完全 RPMI1640 培养基

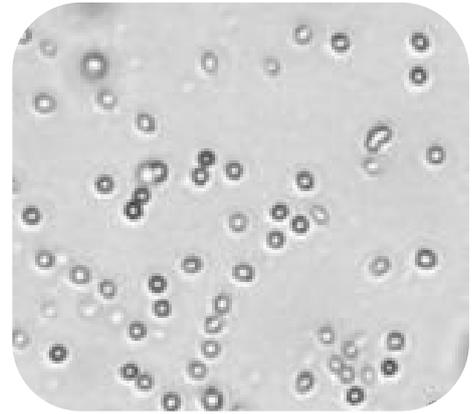
成分	用量
不完全 RPMI1640 溶液	500ml
左旋谷氨酰胺 (L-Glu)	2mM
2-巯基乙醇 (2-ME)	50μM
青霉素(Penicillin)	100U/ml
链霉素(Streptomycin)	100μg/ml
FCS (56°C 灭活 30min)	50ml

特别提醒：复苏培养基中补加 300mM 葡萄糖，可提升细胞活力及活细胞数。

III 细胞的复苏与铺板

重要提示：解冻时，冻存细胞转移必须使用液氮转移；在整个复苏实验过程中必须全程使用宽口枪头。

1. 生物安全柜中，将 10ml 含 300mM 葡萄糖的完全 RPMI1640 培养基加入到 15ml 离心管中，37°C 恒温水浴锅预热 10min，然后转移到生物安全柜中；完全 RPMI1640 培养基放入 37°C 恒温水浴锅中让



其充分预热。

2. 将冻存的 PBMC 从冷藏位置迅速转移至 37°C 恒温水浴锅中。将冻存管尽可能多的浸入 37°C 水中，作规律的水平摇动，但必须确保冻存管盖子保持在水面以上。
3. 解冻冻存管至刚好完全溶解成液体，约 60-120 秒。
4. 用 75% 酒精对冻存管消毒，并将其转移到生物安全柜。
5. 将解冻后的细胞轻轻吹打混匀 2 次，将细胞混匀后小心吸出，并以滴加方式转移至含已预热的复苏培养基的离心管中（**注意：冻存管与枪头上残留细胞，可吸取 1ml 复苏培养基清洗冻存管与枪头并将其混入离心管的培养基中**），轻微上下颠倒离心管 2-3 次混匀。
6. 离心力 650g，升速 7，降速 4，离心 5min。
7. 弃上清（倾倒去上清，保留底部残余液体，减少细胞损失），加入 6-10ml 完全 RPMI1640 培养基重悬细胞，并用台盼蓝染色和血球计数板计数（**V_{细胞悬液}: V_{0.4% 台盼蓝} = 9: 1，细胞活率使用血球计数板手工计数，勿用细胞计数仪；细胞总数使用细胞计数仪计数**）测定细胞的活力、细胞总数，建议细胞总数检测 3 次，求取平均值；为节约时间，细胞活率检测 1 次。
8. 根据计数结果，按实验需求铺板。
9. 在 37°C/ 5% CO₂ 培养箱中培养。

IV 关于售后

如您发现产品有任何质量问题，请您收集原始数据，并第一时间联系公司销售或者技术支持，公司安排人员保证售后。每个实验室条件不同，操作人员习惯不同，熟练程度不一样，实验失败存在客观因素。如未严格按照说明书操作、超过售后时限，公司不做售后，请老师理解与支持。

售后有效期与提供的原始数据：

复苏问题：立刻报告异常；提供台盼蓝染色或者 AO/PI 染色。

污染问题：复苏 96 小时以内；提供相差显微镜照片。

纯度问题：一个月内；提供免疫荧光或者流式结果。

V 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）