

## 人外周血 CD19+ B 细胞说明书

### 产品名称

中文名称：人外周血 CD19+ B 细胞

英文名称：Human Peripheral Blood CD19+ B Cells

规格：10M

预期用途：可作为多种领域研究所需的原材料。

### 贮藏条件与有效期

置于液氮保存，有效期为 24 个月；

生产日期，有效期至：见标签。

### 产品简介

CD19 分子是细胞表面糖蛋白，信号转导分子，参与调节 B 细胞发育、活化和增殖。与 CD21、CD81 组成一个大的信号转导分子，表达在 B 细胞及其前体上，是 B 细胞系列特异性抗原中最早表达的标记。CD19 正常表达见于 B 淋巴细胞；滤泡树突状细胞；正常浆细胞及其前体。异常表达见于大多数急性 B 淋巴细胞白血病/淋巴瘤，但在骨髓瘤细胞，T 细胞和正常的粒细胞上无表达。美森细胞利用自有的 Flosep-C 细胞分离纯化技术从外周血中纯化出 CD19+B 细胞，经流式检测，其纯度大于 90%，纯化后置于液氮保存。

### 【操作步骤】

#### 所需试剂：

- 1 、IMDM,  $\alpha$ -MEM 或 RPMI-1640
- 2 、FBS
- 3 、DNase I

#### 操作流程：

- 1、准备好 37° C 水浴，将 RPMI-1640 与 FBS 温浴至 37° C；
- 2、生物安全柜中，配制含 10% FBS 的培养基 (IMDM,  $\alpha$ -MEM 或 RPMI-1640 均可)，待用；
- 3、从液氮中取出 CD19+B 细胞冻存管，置于-80° C 超低温冰箱中数分钟，使冻存管中的液氮挥发，而后迅速将其置于 37° C 温水中，并快速水平晃动，使其内含物尽快融化，直至冻存管固体内含物余下一小冰屑后取出冻存管；

#### 注意：

- 1) 从液氮中取出冻存管时，往往在冻存管里含有液氮，最好先将冻存管先置于超低温冰箱中，使液氮挥发，再进行水浴化冻的操作；

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



- 2) 尽可能将冻存管的内含物全部浸没于 37° C 温水中, 使内含物均匀融化;
- 3) 请勿使温水没过冻存管盖的螺口, 以防污染;
- 4) 细胞复苏的操作过程要迅速, 避免影响细胞复苏后的活性。
- 5) 采用正选 (Positive selection) 方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠, 故可能冻存管中细胞颜色较深, 此为正常现象, 不影响后续复苏和使用。

4 在将冻存管拿进生物安全柜之前, 用 75% 酒精对其表面进行消毒;

5 轻轻重悬细胞, 并将其移入装有 100 μg DNase I 的 50mL 离心管里;

**注意:**

1) 加入 DNase I 可有效减少细胞复苏后细胞团块的产生;

2) DNase I 的使用是非必须的, 对于 DNA, RNA 等的提取目的可不使用。

6 用 1mL 培养基冲洗冻存管, 并将此悬液以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中, 并且同时轻轻摇晃离心管, 使滴加的悬液混匀;

7 吸取 15-20mL 的培养基以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中, 并且同时轻轻摇晃离心管, 使滴加的悬液混匀;

**注意:** 第 5, 6, 7 步骤可使细胞中的 DMSO 缓慢均匀的渗透出来, 最大程度保证细胞安全, 但操作较为缓慢, 若有多个样品需要处理时, 可以将操作步骤更改为:

5' : 轻轻重悬细胞, 并将其移入装有 100 μg DNase I 的 15mL 离心管里;

6' : 用 1mL 培养基冲洗冻存管, 并将此悬液合并到到 15mL 离心管里;

7' : 吸取 10mL 培养基, 直接加入到 15mL 离心管中, 反复轻柔吹打或上下颠倒混匀, 室温孵育 10min;

8 室温下, 300g 离心 10min;

9 迅速使用移液枪吸走上清, 剩余少许液体, 并轻轻吹打液体使细胞悬浮;

**注意:**

1) 离心结束后, 尽快吸走上清;

2) 吹打液体时动作要轻, 避免损伤细胞, 并且吹打时尽可能避免气泡产生。

10 缓慢加入 15-20mL 新鲜培养基 (快速法中则只要在 15mL 离心管中加入 10mL 培养基即可), 并同时轻轻摇晃离心管;

11 室温下, 300g 离心 10min;

**注意:** 采用正选 (Positive selection) 方法分离的细胞因细胞表面标记有磁珠, 故离心后管中细胞沉淀颜色较深, 此为正常现象, 不影响后续使用。

12 迅速使用移液枪吸走上清, 剩余少许液体, 并轻轻吹打液体使细胞悬浮, 此 CD19+B 细胞即可用于下游实验。

## 产品性能指标

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层

