

货号: B30656

1/5



IgM-PB 检测试剂盒(流式细胞法)说明书

	规格
特异性	人 IgM 重链
克隆	SA-DA4
杂交瘤	X63 × balb/c
免疫原	来自骨髓瘤细胞的人免疫球蛋白重链
同型对照	IgG1
种属	小鼠
纯化	ND
荧光染料	Pacific Blue
摩尔比	Pacific Blue / Ig: 6-8
λ 激发	405 nm
发射峰	455 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA 和 0.1% NaN ₃

REF B30656 50 测试-液体-10 μL/测试

仅供研究使用。不用于诊断程序。

【产品名称】

通用名称: IgM-PB 检测试剂盒(流式细胞法)

英文名称: Anti-Human IgM-Pacific Blue

【试剂】

浓度: 请登录 www.beckmancoulter.com 查看批次特定的检验报告。

【特异性】

抗 IgM SA-DA4 单抗 (mAb) 与人免疫球蛋白 (IgM) μ 重链特异性结合^(1,2,3,4)。抗 IgM mAb 与循环 IgM 以及与 Fc μ R 结合的 IgM 抗体结合。Fc μ R 是一种 60 kD 跨膜单唾液酸糖蛋白, 具有 O-连接寡糖^(1,2)。Fc μ R 含有一个与其他两种 IgM 结合受体 (聚合 Ig 受体和 Fc α / μ R) 同源的胞外 Ig 样结构域, 但表现出独特 Fc μ -结合特异性。

Fc μ R 的胞质尾区含有保守的 Ser 和 Tyr 残基, 但无任何 Tyr 残基与基于免疫受体酪氨酸活化、抑制或转换基序匹配。与其他 FcR 不同, 表达 Fc μ R 的主要细胞类型是适应性免疫细胞, 包括 B 和 T 淋巴细胞。在抗原受体连接或佛波酯刺激后, Fc μ R 表达在 B 细胞上上调, 但在 T 细胞上下调, 这表明在 B 细胞和 T 细胞活化过程中 Fc μ R 表达的差异调节⁽⁵⁾。

Fc μ R 可以在分化的整个前 B 细胞和 B 细胞阶段作为细胞表面活化抗原表达^(6, 7)。由于 μ 前 B 细胞和同型转换的 B 细胞均可能表达 Fc μ R, 因此受体表达与 IgM 产生无直接关联。前 B 细胞和 B 细胞共同产生的受体分子大小相同, 且其特征为具有 O-连接寡糖的酸性唾液酸糖蛋白⁽⁸⁾。因此, Fc μ R 是在 B 系细胞上表达的 Fc 受体系

的第三个成员，其在活化 B 细胞上的优先表达表明其在对抗原的反应中具有潜在作用。

FcμR 在 Fas 介导的细胞凋亡中无抑制活性，且仅当 IgM 而不是 IgG 同型对照的抗 Fas 抗体用于诱导细胞凋亡时才能实现这类抑制。鉴于 IgM 抗体是宿主防御的第一道防线，可合理提出 FcμR 可能通过与 BCR（B 细胞受体）相互作用来增强 B 细胞反应^(9,10)。FcμR 在 B 细胞上的另一个潜在作用是抗原提呈。T 细胞上的 FcμR 似乎可能与 B 细胞上的 IgM BCR 或 IgM/抗原复合体相互作用，以促进 T 细胞和 B 细胞的相互作用，从而增强 B 细胞的活化。FcμR 也可能在 IgM 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性中触发细胞毒性 T 细胞。

【应用】

流式细胞术

【警告和注意事项】

1. 本试剂含 0.1%叠氮钠。叠氮钠在酸性条件下会生成剧毒化合物-叠氮酸。丢弃时，应使用流动水冲洗叠氮化物。建议采取以上预防措施以免在金属管道中沉积（可能引起爆炸）。如果接触到皮肤或眼睛，请用水长时间清洗。
2. 与本试剂接触的标本、样本和所有材料均应视为具有潜在传染性，应采取适当的预防措施进行处置。
3. 切勿口吸移液，避免样本与皮肤和黏膜接触。
4. 请勿使用已超过标签所示失效日期的抗体。
5. 在储存或孵育过程中，请勿将试剂暴露于强光下。
6. 避免试剂发生微生物污染，否则可能出现错误结果。
7. 处理本试剂时，遵循药物非临床研究质量管理规范。
8. 试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

【GHS 危险等级分类】

未被归为危险品

SDS	化学品安全技术说明书提供于 beckman.com/techdocs
-----	---

【储存、处理条件和稳定性】

本试剂在 2-8°C 下储存时可在有效期内保持稳定。切勿冷冻。

无需复溶。本单抗可直接从瓶中取出后使用。使用前使试剂达到 18-25°C。

【内容物】

叠氮钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品[76/8/16]）。

为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

【程序】

测定程序总结

【标本制备】

染色前预清洗全血和骨髓标本，以避免血浆/血清蛋白干扰。根据各个实验室工作流程，可使用批量清洗或单管清洗程序清洗标本。

注：如果在解聚工艺过程中清洗标本，则染色前采用淋巴组织制备的单细胞悬液无需清洗。如果未执行去除残留可溶性蛋白的清洗步骤，或如果在含人血清或血清蛋白的缓冲液中重悬细胞，则需要进行预清洗。遵照您在实验室的程序进行清洗。

注意：未能遵照清洗说明（体积和清洗周期）可能导致错误结果。

【A. 批量清洗程序】

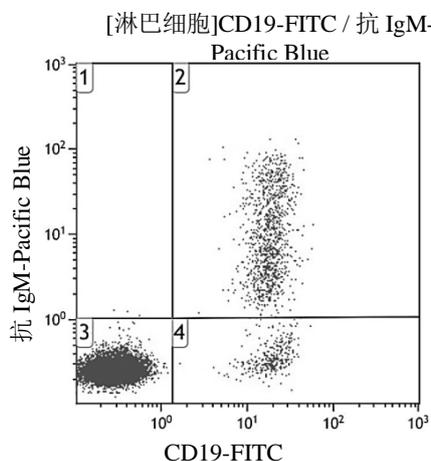
- A. 获取样本的 WBC 计数。
- B. 将 1.0 mL 全血或骨髓标本加入 15 mL 锥形离心管中。
- C. 添加 9.0 mL 的 PBS/2% FCS 清洗缓冲液。轻轻颠倒混合。
- D. 以 150 × g 离心 10 分钟。
- E. 吸取并丢弃上清液。
- F. 再重复步骤 3 至 5 两次。
- G. 将清洗后的细胞团块以适当体积在 PBS/2% FCS 或 PBS/50%小鼠血清中重悬，以获得 2-20×10³ 个细胞/μL 的 WBC 计数。
- H. 进行染色程序。

【B. 单管清洗程序】

- A. 获取样本的 WBC 计数。
 - a. 如果 WBC 计数高于 20×10³ 个细胞/μL，则用 PBS/2% FCS 清洗缓冲液适当稀释样本。
 - b. 如果 WBC 计数小于 2×10³ 个细胞/μL，则必须在清洗前对样本进行浓缩。
- B. 对于每个样本，将 100 μL 全血或骨髓标本加入 12×75 mm 试管中。
- C. 添加 3.0 mL 的 PBS/2% FCS 清洗缓冲液。轻轻颠倒混合。
- D. 以 1000 × g 离心 2 分钟。
- E. 吸取并丢弃上清液。
- F. 再重复步骤 3 至 5 两次。
- G. 将清洗后的细胞团块在 PBS/2% FCS 或 PBS/50%小鼠血清中重悬至初始 100 μL 体积。
- H. 进行染色程序。

【示例数据】

下图为正常全血裂解后测得的双参数直方图。使用以下抗 IgM-Pacific Blue 进行染色
使用搭载 CXP 采集软件的 Navios 流式细胞仪进行采集。



在淋巴细胞上设门的预清洗裂解后正常全血

【商标】

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是贝克曼库尔特（美国）股份有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

Pacific Blue 为 Molecular Probes, Inc.的商标。

【其他信息】

欲获得其他信息，或收到破损产品，请致电 400 821 8935 与贝克曼库尔特客户服务部联系，或联系当地贝克曼库尔特代表。

【符号说明】

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文件编号 B60062）

【说明书版本说明】

原文说明书文档版本： B59748AB，原文说明书生效日期： 2019 年 09 月；

中文说明书文档版本： B59748AB-CN ，中文说明书生效时间： 2024 年 4 月；

中文说明书 B59748AB-CN 内容直接翻译自原文说明书 B59748AB。

【参考文献】

1. Tatsuharu Ohno, Hiromi Kubagawa, Sheila K. Sanders, and Max D. Cooper. Biochemical Nature of an Fc μ Receptor on Human B-Lineage Cells, *J. Exp. Med.* 1990, volume 172, 1165-1175.
2. Hiromi Kubagawa, Satoshi Oka, Yoshiki Kubagawa, Ikuko Torii, Eiji Takayama, Dong-Won Kang, G. Larry Gartland, Luigi F. Bertoli, Hiromi Mori, Hiroyuki Takatsu, Toshio Kitamura, Hiroshi Ohno, and Ji-Yang Wang, Identity of the elusive IgM Fc receptor (Fc R) in Humans, *J. Exp. Med.* 2009, Vol. 206 No. 12 2779-2793
3. Kubagawa H, Gathings WE, Levitt D, Kearney JF, Cooper MD. Immunoglobulin isotype expression of normal pre-B cells as determined by immunofluorescence. *J Clin Immunol.* 1982 Oct;2(4):264-9.
4. Maruyama, S, Kubagawa, H Cooper, MD, Activation of Human B cells and inhibition of their terminal differentiation by monoclonal anti- μ antibodies, *J Immunol.* 1985; 135 (1):192-9.
5. Suzuki T, Butler JL, Cooper MD. Human B cell responsiveness to B cell growth factor after activation by phorbol ester and monoclonal anti- μ antibody. *J Immunol.* 1985 Apr; 134 (4):2470-6.
6. Kiyotaki M, Cooper MD, Bertoli LF, Kearney JF, Kubagawa H. Monoclonal anti-Id antibodies react with varying proportions of Human B lineage cells. *J Immunol.* 1987 Jun 15;138(12):4150-8.
7. H Kubagawa, M D Cooper, A J Carroll, and P D Burrows. Light-chain gene expression before heavy-chain gene rearrangement in pre-B cells transformed by Epstein-Barr virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 April; 86(7): 2356–2360.
8. N Nishimoto, H Kubagawa, T Ohno, G L Gartland, A K Stankovic, and M D Cooper, Normal pre-B cells express a receptor complex of μ heavy chains and surrogate light-chain proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 July 15; 88(14): 6284–6288.
9. T Nakamura, H Kubagawa, and M D Cooper, Heterogeneity of immunoglobulin-associated molecules on Human B cells identified by monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 September 15; 89(18): 8522–8526
10. G. R. Kolar, D. Mehta, P. C. Wilson & J. D. Capra, Diversity of the Ig Repertoire is Maintained With Age In Spite of Reduced Germinal Centre Cells in Human Tonsil Lymphoid Tissue, *Scandinavian Journal of Immunology*, 2006, 64, 314–324



免疫泰克有限公司 IMMUNOTECH S.A.S. (a Beckman Coulter Company) , 130, avenue de Lattre de
Tassigny, BP 177, 13276 Marseille cedex 9, France, 33-491 172 727