

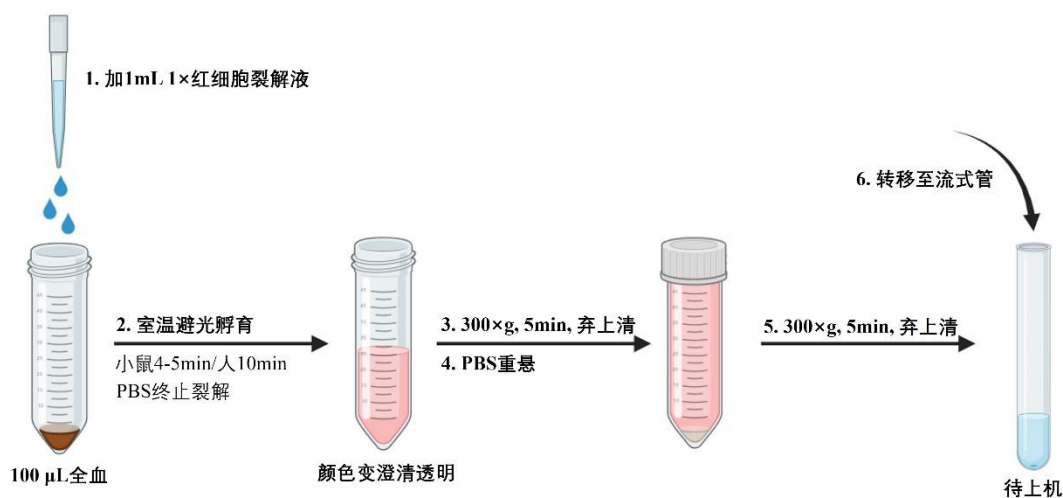
外周血裂红制备单细胞悬液样本方案

一、耗材与试剂

表 1 外周血裂红部分试剂耗材参考表

材料	试剂	设备
15/50 mL 离心管	1×PBS 缓冲液	血细胞计数板
10 mL 移液管	红细胞裂解液	电动移液器、1 mL 枪头
5 mL 流式管	细胞染色缓冲液	高速离心机
		涡旋仪
		4℃ 冰箱
		流式细胞仪

二、实验流程图



三、实验步骤

(1) 实验前准备

裂解液配制：用去离子水将 10×红细胞裂解液稀释为 1×工作浓度。

▲ 注意：如果使用 1×红细胞裂解液，无需稀释，直接室温平衡 1 小时使用。

(2) 外周血裂红步骤

1. 采集人或鼠的外周血样本于抗凝管中，室温保存，血液样品离体建议 2 h 内处理效果最佳，若无法及时处理，4℃保存，12 h 内处理；
2. 取新鲜抗凝血 100 μL，加入 900 μL 的 1×红细胞裂解液，轻柔吹打混匀，室温下裂解 4~15 min。

▲ 注意：小鼠的血液裂解 4~5 min 已经足够，人的外周血，宜延长裂解时间至 10~15 min，裂解过程中轻轻摇动以促进红细胞裂解。

3. 加入 4 mL PBS，轻柔混匀重悬沉淀。

4. 4°C，450×g 离心 5 min，小心弃去红色上清。

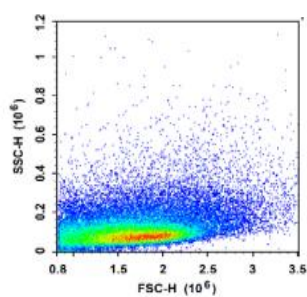
▲ 注意：如果发现红细胞裂解不完全，可以重复上述步骤 2~4 一次

5. 细胞计数后用细胞染色缓冲液悬浮细胞至 $5 \sim 10 \times 10^6$ 个/mL。并将细胞悬液按照 100 μ L/管分配到 12×75 mm 的流式管中，进行后续实验（裂红效果图见图 1 和图 2）。

四、裂红效果图



裂红前



裂红后

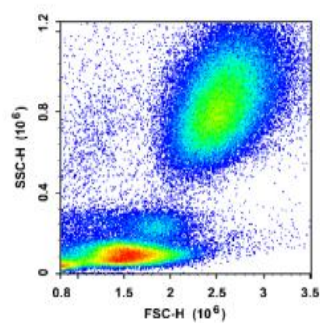


图 1 小鼠外周血裂红效果图

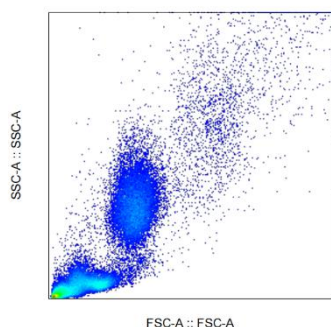


图 2 人外周血裂红效果