



流式细胞术（组织分析分选）实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
镊子	N/A	N/A
剪刀	N/A	N/A
离心机	N/A	N/A
恒温摇床	知楚	ZQLY-180
流式细胞仪	BD	Cytoflex SRT/Celesta
50mL 离心管	科兔生物	KTL-50-P
1.5mL 离心管	科兔生物	KTL-15-P
细胞过滤器（70 μm）	Beyotime	FSTR072
细胞孔板	科兔生物	KTB-6

2、主要实验试剂

试剂名称	厂家	货号
DMEM 培养基	科兔生物	RG-CE-2
胰蛋白酶	科兔生物	RG-CE-12
胶原酶 I	1904MG100	BioFrox
DNA 酶	10104159001	Roche
PBS	科兔生物	RG-CE-10
红细胞裂解液	C3702	beyotime
FACS 缓冲液	tbn-4222-L500	Tonbo
XX 抗体		
XX 抗体		
XX 抗体		

二、实验步骤

1、样本采集：



2、组织解离：

- (1) 使用手术剪刀和解剖刀将组织切割成 1-2 毫米的小块。
- (2) 将组织块放入含有胶原酶和 DNA 酶的 DMEM 培养基中组成的消化液的 EP 管中，轻轻振荡，置于 37°C 摇床上孵育 30-60 分钟，期间每隔 10 分钟轻轻振荡混匀。
- (3) 通过使用 70 μ m 细胞筛网过滤组织，去除未解离的组织块，收集筛网下的细胞悬液。

3、细胞裂红、清洗和计数：

- (1) 将单细胞悬液在 500 \times g 下离心 5 分钟，弃上清。
- (2) 加入 3-5 倍细胞体积的红细胞裂解液，轻轻吹打混匀，裂解 1-2 分钟。例如细胞沉淀的体积为 1ml，则加入 3-5ml 的红细胞裂解液。本步骤在室温或 4 度操作均可。
- (3) 400-500g 离心 5 分钟，弃红色上清。4°C 离心效果更佳。
- (4) 如果发现红细胞裂解不完全，可以重复上述步骤 2 和步骤 3 一次。
- (5) 洗涤 1-2 次：加入 1mL PBS 重悬沉淀，400-500g 4°C 离心 2-3 分钟，弃上清。可再重复 1 次，共洗涤 1-2 次。
- (6) 重悬细胞于重悬液中（PBS+2%血清）。

4、抗体染色：

按以下分组每管染色体系分装细胞：

加入适量抗体（按厂家推荐浓度），轻轻混匀后避光孵育 30 分钟（4°C 或室温），后加入 1 mL FACS 缓冲液清洗，离心后弃去上清，重悬细胞于 300 μ L 重悬液中待测。

5、上机检测：根据直标抗体上荧光染料选择适合的通道进行上机检测，

三、数据分析

用 FlowJo 软件分析细胞阳性率。

仅供科研用途，不可用于临床诊断！