

Tris-氯化铵红细胞裂解液

【货号】 BL-O52

【规格】 100mL / 500mL

【保存】 2~8℃, 12 个月。

【产品简介】

去除红细胞的方法有多种, Tris-氯化铵红细胞裂解液(Tris-NH₄Cl Red Blood Cell Lysis Buffer), 也称为 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer, 是一种从人、鼠或其他哺乳动物等体内的组织样品或血液中裂解并去除无核红细胞的溶液, 其主要有效成分为氯化铵, Tris-NH₄Cl Lysis Buffer 经过优化配方, 在裂解无核红细胞的同时几乎不损伤淋巴细胞(lymphocyte)或其它有细胞核的细胞。

Tris-NH₄Cl Lysis Buffer 对于裂解、去除有细胞核红细胞, 例如鸟或禽类的红细胞, 效果不佳, 裂解类似细胞时, 不建议采用。本裂解液经过滤除菌, 经过 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer 处理过的血液或组织细胞样品可以用于后续的细胞培养、细胞融合以及核酸或蛋白的提取及各种常规的分析 and 检测。

【使用方法】 (仅供参考)

(一) 组织细胞样本的常规操作

1、制备细胞悬液: 新鲜组织经过胰蛋白酶或胶原酶等消化处理, 通过适当方法制备成细胞悬液, 离心弃上清。

2、裂解: 加入 3~5 倍细胞沉淀体积的 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer, 轻柔吹打混匀, 裂解 2~3min。本操作步骤在 4℃ 条件下操作更佳, 亦可在室温下操作。

3、离心: 将细胞置于 100% 的胎牛血清中, 4℃, 300~400g 离心 10min, 弃红色上清。如无低温离心机本步骤亦可在室温下操作。

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 各一次。

5、洗涤：根据具体实验要求加入适量 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，轻柔混匀重悬沉淀。4℃，300~400g 离心 3~5min，弃上清，离心步骤亦可在室温下操作。所加入的 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液的量一般应大于细胞沉淀体积的 5 倍以上。

6、如有必要，重复上述步骤 5 一次，共洗涤 1~2 次。

7、根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀，进行计数、培养等后续实验。

(二) 组织细胞样本的快速操作(无需洗涤)

1、制备细胞悬液：新鲜组织经过胰蛋白酶或胶原酶等消化处理，通过适当方法制备成细胞悬液，离心弃上清。

2、裂解：加入细胞 5 倍细胞沉淀体积的 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer，轻柔吹打混匀，裂解 2~3min。本操作步骤在 4℃ 条件下操作更佳，亦可在室温下操作。

3、加入 15~20ml 的 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，轻柔混匀。

4、离心：将细胞置于 100% 的胎牛血清中，4℃，300~400g 离心 5min，弃红色上清，本步骤亦可在室温下操作。

5、如果发现红细胞裂解不完全，可以重复上述步骤 2~4 各一次。

6、根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀，进行计数、培养等后续实验。

(三) 血液样本的常规操作

1、取新鲜抗凝血，400~500g 离心 5min，离心弃上清。

2、裂解：加入 6~10 倍细胞沉淀体积的 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer，轻柔吹打混匀，裂解 2~5min。本操作步骤在 4℃ 条件下操作更佳，亦可在室温下操作。（特别提醒：对于鼠的血液，裂解 2~3min 已经足够，对于人的外周血，宜延长裂解时间至 4~5min，并且裂解过程中轻轻摇动以促进红细胞裂解。）

3、离心：将细胞置于 100% 的胎牛血清中，4℃，300~400g 离心 10min，弃红色上清。如无低温离心机本步骤亦可在室温下操作。

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：根据具体实验要求加入适量 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，轻柔混匀重悬沉淀。4℃，300~400g 离心 3~5min，弃上清，离心步骤亦可在室温下操作。所加入的 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液的量一般应大于细胞沉淀体积的 5 倍以上。

6、根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀，进行计数、培养等后续实验。注意：对于微量或少量的血液样本，可以不用第1步操作，加入10倍血液体积的 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer 进行第2步操作，并在4℃或室温裂解4~15min。对于鼠的血液，裂解4~5min已经足够；对于人的外周血，宜延长裂解时间至10min，但通常不宜超过15min，并且裂解过程中宜适当摇动以促进红细胞裂解。

（四）血液样本的快速操作(无需洗涤)

1、新鲜抗凝血中加入10倍体积的 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer，轻轻敲打混匀，裂解4~15min。本操作步骤在4℃条件下操作更佳，亦可在室温下操作。（特别提醒：对于鼠的血液，裂解4~5min已经足够，对于人的外周血，宜延长裂解时间至10min，但通常不宜超过15min，并且裂解过程中宜适当摇动以促进红细胞裂解。

2、加入20~30ml PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，轻柔混匀。

3、将细胞置于100%的胎牛血清中，300~400g离心10min，弃红色上清。4℃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、根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀，进行计数、培养等后续实验。

【注意事项】

1、制备细胞悬液是应根据具体实验需要，不一定要制备成单细胞悬液。

2、后续试验如果是用于细胞培养，操作过程中应注意无菌操作，尽量在超净工作台内操作。

3、离心步骤尽量在4℃离心机上操作。

4、对于常规步骤与快速步骤的区别在于：常规步骤多了一步洗涤过程的离心，可以节省洗涤液的用量，并且洗涤效果也更好，不需要大体积的离心管；快速步骤少了一次离心过程，洗涤效果略差一些，同时需要大体积的离心管。

5、离心洗涤后，通常极微量的红细胞不会影响后续的检测。

6、如果经过 Tris-NH₄Cl Lysis Buffer 处理后的样品后续用于总RNA的提取，在处理细胞时不必使用 DEPC 处理的溶液，即无需在该操作中特意去除 RNase。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。