## 肿瘤组织制备单细胞悬液

1. 实验仪器：15mL离心管、50mL离心管、10cm培养皿、1mL无菌注射器、剪刀、镊子等。
2. 实验材料：肿瘤组织、PBS、双抗、空培养基、0.22μm滤膜、红细胞裂解液。
3. 实验步骤**:**
4. 取手术切除的新鲜肿瘤组织,在皿中加入一定量的双抗和PBS混匀，将组织剪成1-3mm大小的碎块后进行研磨，PBS冲洗过滤后1200r/5min离心。
5. 弃上清，加入一定量的红细胞裂解液，吹打混匀，静置5min，1200r/5min离心，如果细胞仍较红，再吹匀静置后离心。
6. 离心后吸弃上清加入PBS清洗2-3次，后计数。
7. 若是培养需要调整细胞数量在1X10\*5/mL左右至T25细胞培养瓶中培养，或者直接用作流式分析及其他分析。
8. 主要仪器

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **名称** | **型号** | **生产商** |
| 二氧化碳培养箱 | 3111 | Thermo |
| 全自动细胞计数仪 | Countess II | Thermo |
| 荧光倒置显微镜 | Ts2R-FL | NIKON |
| 成像系统 | DP73 | OLYMPUS |
| 低速离心机 | TD5 | 卢湘仪 |
| 真空吸液泵 | G6-802B | 其林贝尔 |
| A2 型二级生物安全柜 | 1800A2 | 上海知楚 |

1. 主要试剂

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **名称** | **货号** | **生产商** |
| DMEM培养基 | C11995500BT | Gibco |
| RPMI1640培养基 | C11875500BT | Gibco |
| Penicillin-Streptomycin Solution | SV30010 | HyClone |
| 0.22μm滤膜 | BS-PES25-22-S | Biosharp |
| 红细胞裂解液 | 70039700 | Roche |