Tris- 氯化铵红细胞裂解液

产品简介:

在生物科研领域，经常需要去除红细胞，去除红细胞的方法有多种，如 ACK Lysis Buffer 、Tris- 氯化铵红细胞裂解液、 Gey's Lysis Buffer 。 Tis- 氨化铵红细胞裂解液 (Tris-NH_4Cl Red Blood Cell Lysis Buffer) ，也称为 Tris-NH_4Cl 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 NH_4Cl .

Tris-NH_4Cl 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。本裂解液经过滤除菌，经过 Tris-NH_4Cl 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和检测。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCCS0006	GCCS0006	Storage
Tris-NH_4Cl Lysis Buffer	100ml	500ml	4℃
使用说明书	1 份		

自备材料:

1 、 胰蛋白酶、胎牛血清、 PBS 、 HBSS 、生理盐水或无血清培养液

2 、 离心机

操作步骤(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-NH_4Cl Lysis Buffer ，轻柔吹打混匀，裂解 1 ~ 2min ； 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 : 4℃ 400 ~ 500g 离心 5min ，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℃ 400 ~ 500g 离心 2 ~ 3min ，弃上清，该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-NH_4Cl Lysis Buffer ，轻柔吹打混匀，裂解 1 ~ 2min ，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 PBS 、 HBSS 、生理盐水或无血清培养液，轻柔混匀。

4 、离心： 4℃ ， 400 ~ 500g 离心 5min ，弃红色上清，本离心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 ，弃上清。

2 、裂解 :加入 6 ~ 10 倍细胞沉淀体积的 Tris-NH_4Cl Lysis Buffer ，轻柔吹打混匀，裂解 1 ~ 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 1 ~ 2min 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 : 4℃ 400 ~ 500g 离心 5min ，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℃ ， 400 ~ 500g 离心 2 ~ 3min ，弃上清，该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，可直接加入 10 倍血液体积的 Tris-NH_4Cl 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-NH_4Cl Lysis Buffer ，轻轻吹打混匀，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、400 ~ 500g 离心 5min，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、制备细胞悬液时应根据实验需要，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、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 ACK 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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月有效。低温运输，4℃ 保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0130	胰蛋白酶 -EDTA 溶液 (0.25%:0.02%)
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液 (ACK Lysis Buffer)
GCDA0020	Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒
GCDG0005	糖原 PAS 染色液
GCPW0082	丽春红 S 染色液 (1×Ponceau S)
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒 (GOD-POD 比色法)