

流式细胞术注意事项

技术简介

流式细胞仪是集激光设备、电子信息技术、光学精确测量技术、电子信息技术及其体细胞荧光技术、单克隆抗体技术为一体化的新式高科技仪器设备，具备敏感度高、可重复性好、非特异强、方式灵便、剖析快等优势。流式细胞仪检测分析的对象是细胞或者细胞样颗粒性物质，是细胞学的重要研究手段之一，准备合格的样品是保证实验数据准确的基础。

在典型的流式细胞术样品制备中，磷酸盐缓冲液 (PBS) 是一种常见的悬浮缓冲液，流式细胞术直接的样品包括来自培养物、细菌、酵母、血液和组织的非贴壁细胞。对于细胞培养，细胞浓度 10^5 – 10^7 个细胞/ml，分选速度约为 2,000–20,000 个细胞/秒。对于血液，通常通过简单的裂解步骤去除红细胞；然后通过它们的 FSC/SSC 特征快速识别淋巴细胞、粒细胞和单核细胞。对于实体组织，例如肝脏或肿瘤，为了产生单细胞，实体材料必须通过机械或酶促分解。机械分解包括将切碎的组织悬浮液通过细针数次，然后根据需要进行研磨和超声处理。

样品处理

1 细胞制备

储存在液氮中的细胞：从液氮中快速取出解冻，离心后 PBS 重悬使用；

体外培养重悬细胞：直接收集细胞离心，PBS 重悬沉淀；

贴壁细胞：需用胰酶消化细胞适当时间后，收集待测样品细胞；

外周血：抽取适量的血液于抗凝剂离心管中，一般以 2-4 倍 PBS 稀释血液，离心分离红细胞；

胸水、腹水、脑脊液等体液内的细胞：直接将体液标本离心，弃上清，用 PBS 重悬沉淀；

免疫细胞：主要包括胸腺、脾脏和淋巴结等，制备这些脏器的单细胞悬液，直接将脏器经钢网研磨即可；

实体脏器样品：实体脏器如肺脏、肝脏和肿瘤组织内含有较多的结缔组织，实体脏器细胞之间一般结合紧密，直接研磨无法得到理想单细胞悬液。需将脏器剪碎后加入 IV 型胶原酶消化，消化后的组织再直接研磨。在缓冲液中加入 EDTA 等阳离子螯合剂以防止单细胞

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 400-669-8850 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

再聚集。

2 细胞与血液直接免疫荧光染色

该技术适用于荧光染料与一抗直接连接的情况，例如 PE、FITC 和 Alexa Fluor 偶联物。调节细胞浓度为 1×10^6 细胞/ml，全血样本可不经稀释使用，适宜抗体浓度与细胞混合室温孵育。

3 细胞与血液间接免疫荧光染色

该技术适用于使用未偶联或生物素偶联的单克隆和多克隆抗体的情况。使用二级试剂来显示一抗。

4 全血分析细胞内因子

可用于分析小样本，并避免在通过密度梯度离心分离外周血细胞期间产生人为影响的干扰，所有血样必须收集到肝素抗凝剂中。EDTA 会干扰细胞刺激过程，应避免使用。

5 细胞内抗原直接染色

细胞内抗原的检测需要在染色前进行细胞通透步骤。

参考文献

- [1]刘倩, 魏臻武. 流式细胞术分析苜蓿相对 DNA 含量的样品处理方法[J]. 草业科学, 2014, 31(9):1718-1723.
- [2]李子安, 张晓娜, 阿祥仁. 不同的样本保存方式对流式细胞术检测淋巴细胞亚群结果的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(12):4.
- [3]杜秀敏, 齐发莲, 杨道理. 流式细胞术外周血样品的直标法[C]// 中国免疫学会第四届学术大会会议议程及论文摘要集. 2002.
- [4]贾云香, 孙兆瑶, 卓夏阳. 流式细胞术新鲜实体瘤检测样本的制作[J]. 江西医学检验, 2006, 24(6):3.
- [5]周向京. 流式细胞术检测培养细胞表面抗原的样品制备方法探讨[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(8):2.