

Red Blood Cell Lysis Protocols

Introduction:

Red Blood Cell (RBC) Lysis Buffer (Cat. No. 420301)は、末梢血液由来の赤血球と同様に、脾臓等の造血組織の細胞懸濁液において赤血球の溶解に対して最適化されています。RBC Lysis Bufferは、リンパ球への悪影響を最小限にとどめて赤血球を溶解する塩化アンモニウムを含有しています。

Method I: マウス脾臓細胞

1. マウス脾臓を、単一の細胞懸濁液として調製します。
2. 350xgで遠心し上清を除きます。
3. 10倍のRBC Lysis Bufferを脱イオン水で1倍濃度にし、1倍RBC Lysis Bufferを細胞ペレットに3~5ml加え懸濁します。
4. 攪拌した後4~5分間氷冷中に置きます。
5. 1倍濃度のPBSを10~20ml加え、希釈によって反応を停止します。
6. 350xgで遠心し上清を除き、適したバッファーで再懸濁します。(例 BioLegend Cell Staining Buffer Cat. No. 420201)
7. 細胞数をカウントし濃度を調整します。

Method II: ヒト末梢血

1. 10倍のRBC Lysis Bufferを脱イオン水で1倍濃度にし、室温に戻します。
2. 全血100 μ lに対し1倍RBC Lysis Bufferを各チューブ2mlずつ加えます。
3. 1倍RBC Lysis Bufferを加えたら直ちに、穏やかにボルテックスします。遮光、室温で10~15分間置きます。
4. 350xgで遠心し上清を除き、ペレットを崩さないように上清を除き、適したバッファーで再懸濁します。(例 BioLegend Cell Staining Buffer Cat. No. 420201)

References:

1. Muirhead K., et al. 1986. *Ann. NY Acad. Sci.* 468:113.
2. Mishell, B., et al. 1980. *Preparation of Mouse Cell Suspensions*. In: Selected Methods in Cellular Immunology. W.H. Freeman & Company, San Francisco, p. 23.

Reagent List:

1. Cell Staining Buffer (Cat. No. 420201)
2. RBC Lysis Buffer (Cat. No. 420301)