培养细胞的单细胞悬液的制备

高质量的单细胞悬液是流式分析的保证。按照培养细胞的特征分为悬浮培养细胞和贴壁培养细胞。由于细胞增殖可能形成大小不等的细胞团块或连接成片。如果粘连细胞过多，或者细胞碎片过多都会影响流式分析的结果，进而导致实验失败。所以制备合格的培养细胞的悬液十分重要。

培养细胞样品的制备步骤：

一、悬浮细胞

直接收集到离心管中，离心，加含有0.5% BSA的PBS清洗2次，去除细胞碎片和死细胞。之后按照实验目的直接上机检测，或者染色后再进行上机检测。

二、贴壁细胞

1. 将培养细胞培养基弃去，用PBS清洗一遍，用0.25%胰酶消化。消化时间根据室温情况而定，直至在光镜下见到贴壁细胞逐渐变圆，细胞间出现间隙为止。之后弃去消化液，加等体积的完全培养基终止消化；

2. 将细胞轻轻吹打下来，移入离心管；

3. 800-1000 rpm，离心5分钟；

4. 弃上清，用pH 7.4的PBS清洗，800-1000 rpm，离心5分钟，弃上清，重复2-3次，以出去细胞悬液中的细胞碎片；

5. 加300-500 LPBS缓冲液，将沉淀细胞轻轻吹打重悬，上机检测，或者按照实验目的染色后检测。