

# 实验二 人类外周血淋巴细胞培养

# 一、目的要求

- 了解人体外周血淋巴细胞短期培养的原理及方法。

## 二、试剂

- 肝素 0.2ml/ml血
- 培养基 1640 4ml
- PHA 0.2ml-----200 $\mu$ g/ml
- 秋水仙素 (10  $\mu$ g/ml ) 0.2ml-----0.05  $\mu$ g/ml
- 青霉素 100IU/ml
- 链霉素 100IU/ml
- 小牛血清 1ml

### 三、实验原理

血液中的T淋巴细胞在体外培养中经一定剂量的植物血凝素（PHA）刺激，可以返回细胞周期进行细胞分裂

用秋水仙素积累分裂相，用0.075 mol/L KCl进行低渗后，经固定、染色，可见到分散的染色体

## 四、内容步骤

- 采血 → 接种 → 培养72h, 37℃ (结束培养前3-4h打秋仙)

## 五、注意事项

- 严格无菌操作。
- 7个同学一组，其中一个同学抽血4ml。滴7瓶，每瓶20滴，培养72小时。
- 周四上午10:00加秋仙。10 $\mu$ g/ml 0.2ml/瓶

# 实验 三

## 人类外周血染色体标本的制备

# 一、目的要求：

- 初步熟悉人类外周血染色体制作方法。

## 二、操作步骤

- 1、收集细胞 吸打使其分散，离心（1500r/min，10min）。
- 2、低渗处理 加入预热至37℃的低渗液至8 ml，吸打混匀，恒温水浴30min。
- 3、预固定 加入固定液1ml，吸打混匀，离心（2000r/min，10min）。
- 4、固定 加入固定液至8ml，吸打混匀，固定20min，离心（2000r/min，10min）。
- 5、滴片 加入固定液0.5ml—1ml，吸打混匀。吸取细胞悬液滴2~3滴于冰冻载玻片上(平拿)，用嘴吹散细胞，载片快速在酒精灯外焰上过3~4次。写上班级、学号，上交。
- 6、染色 将制好的片子放入Giemsa染液缸里染色10min后自来水冲洗，自然风干标本后镜检。







