

## Tabla de contenidos

<b>Descripción del Protocolo</b>	<b>2</b>
Diagrama de Flujo . . . . .	3
Anexos . . . . .	3

## Descripción del Protocolo

### Pasos

- Precalentar a 37°C solución de PBS 1X y Solución de Hanks-SFB (5 %).
- Eutanasiar a los ratones por dislocación cervical. Una vez muertos los ratones, realizar una incisión abdominal por planos por piel y peritoneo. Separar el intestino delgado del estómago y hacer un corte en el píloro gástrico. Eliminar el ciego y continuar hasta el recto.
- Extraer cuidadosamente el intestino, retirar el tejido mesentérico adyacente y las placas de Peyer.
- Cortar el intestino longitudinal de extremo a extremo y colocarlo en una bandeja con PBS 1X/37°C y agitar suavemente. Transferir a una nueva bandeja y repetir dos veces el proceso.
- Cortar el intestino en fragmentos de 0.5cm y colocar en un tubo falcón (50ml): EDTA (2mM) en solución de Hanks-SFB (30ml). Agitar a 250 rpm/37°C/20 minutos.
- Remover el tejido y repetir la incubación con soluciones frescas.
- Cortar finamente el tejido en fragmentos de 1mm y agregar colagenasa tipo IV (1mg/ml) y DNasa I (800µg) disueltas en solución de Hanks-SFB (20ml). Poner en agitación continua 200rpm/37°C/10 minutos.
- Pasar la solución por un colador celular de 100µm y coleccionar la suspensión celular, agregar 20ml de solución de Hanks-SFB frío. Centrifugar 1500 RPM/4°C/5 min.
- Resuspender el botón celular y contar las células en la cámara de Neubauer.

### Notas

- Es importante mantener las soluciones a 37°C.

## Diagrama de Flujo



Figura 1: Figura

## Anexos

Soluciones

### Solución de Hanks

Header 1	Header 2
HBSS	4.75g
Bicarbonato de sodio	0.17g
HEPES	1.2g
SFB	25ml
H <sub>2</sub> O	Aforar a 1L

Reactivos

HBSS *Sigma H2387*

Material

muchos tubos falcon 50 ml