

流式细胞术细胞质染色实验方案

需要的试剂：

1. 流式胞内固定破膜缓冲液试剂盒 (PF00019)
2. 超纯水
3. 1X PBS
4. 流式细胞术的抗体

实验步骤：

实验预处理：使用超纯水将流式细胞通透剂 (PF00019-B 10X) 稀释至PF00019-B 1X 备用（取1份流式细胞通透剂 (PF00019-B 10X) 和9份超纯水混匀）。

1. 收集细胞并用1X PBS洗涤细胞2次，每次350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
(可选) 在固定步骤之前，使用一种Phantom Dye死活细胞鉴定染料 (PD00001~ PD00009) 标记活细胞。
(可选) 使用推荐用量的荧光染料偶联一抗进行细胞表面染色，染色结束后用1 mL染色缓冲液洗涤细胞，350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
2. 用1X PBS洗涤后的细胞，按 1×10^6 个细胞收集至EP管（流式管）或者96孔细胞板中。每管加入0.5 mL的流式细胞固定液 (PF00019-A 1X) 或者每孔加入200 μ L的流式细胞固定液 (PF00019-A 1X)，混匀后室温避光静置15分钟。350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
3. 洗涤细胞：每管加入1 mL流式细胞通透剂 (PF00019-A 1X) 或者每孔加入200 μ L流式细胞通透剂 (PF00019-A 1X)。混匀后，350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
4. 重复步骤3（洗涤），对于96孔板，可重复2次。
5. 加入100 μ L的流式细胞通透剂 (PF00019-B 1X) 重悬细胞。
6. 加入推荐用量的一抗，4°C避光孵育20-40分钟。
7. 孵育完成后，重复步骤3和步骤4。
 - 注意：如果使用荧光染料偶联的一抗，请跳至步骤10。
8. 使用流式细胞通透剂 (PF00019-B 1X) 稀释二抗。加入100 μ L稀释好的二抗，混匀，4°C避光孵育15-30分钟。
9. 孵育完成后，重复步骤3和步骤4。
10. 加入200 μ L流式细胞通透剂 (PF00019-B 1X) 重悬细胞并在流式细胞仪上分析。

Contact Details:

USA
P: 1-888-478-4522
E: proteintech@ptglab.com

Europe
P: 1-888-478-4522
E: europe@ptglab.com

China
P: 1-888-478-4522
E: proteintech-cn@ptglab.com