

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 10×) 稀释至PF00019-B 1×备用 (取1份流式细胞通透剂 (PF00019-B 10×) 和9份超纯水混匀)。

1. 收集细胞并用1x PBS洗涤细胞2次, 每次使用400-600g的离心力, 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, 使用400-600g的离心力, 离心5分钟, 弃去上清。
2. 用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 1×) 或者每孔加入200 μ L的流式细胞固定液 (PF00019-A 1×), 混匀后室温避光静置15分钟。使用400-600g的离心力, 离心5分钟后, 弃上清。
3. 洗涤细胞: 每管加入1 mL 流式细胞通透剂 (PF00019-A 1×) 或者每孔加入200 μ L流式细胞通透剂 (PF00019-A 1×)。混匀后, 使用400-600g的离心力, 离心5分钟后, 弃上清。
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 1×), 重悬细胞。
6. 按照抗体说明书中推荐的最佳浓度对样本进行实验。
7. 孵育完成后, 重复步骤3和步骤4。
8. 加入200 μ L流式细胞通透剂 (PF00019-B 1×) 重悬细胞后, 在流式细胞仪上采集样品。
9. 如果需要孵育二抗: 跳过步骤8, 进入步骤10。
10. 使用流式细胞通透剂 (PF00019-B 1×) 稀释二抗。加入100 μ L稀释好的二抗, 混匀细胞。
11. 孵育完成后, 重复步骤3和步骤4。
12. 加入200 μ L流式细胞通透剂 (PF00019-B 1×) 重悬细胞后, 在流式细胞仪上采集样品。

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