流式细胞术检测磷酸化蛋白实验方案

实验试剂：

1. 1X PBS
2. 流式检测磷酸化蛋白固定通透试剂盒（PF00026）
3. 超纯水
4. 流式细胞术的抗体

实验步骤：

1. 用1X PBS洗涤后的细胞，按1×10^6个细胞收集至EP中。加入0.5 mL固定剂（PF00026-1），混匀后室温静置15分钟。350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
2. 使用前将通透剂（PF00026-2）冷却至 -20 °C。
3. 加入0.5 mL预冷的通透剂（PF00026-2），混匀后室温静置5分钟。350-500 x g离心5分钟，弃去上清。（使用移液器将细胞吹匀即可。）
4. 实验前取1份染色缓冲液（PF00026-3，10X）和9份超纯水混匀。
5. 加入1.5 mL染色缓冲液（1X）。混匀后，350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
6. 重复步骤5。
7. 加入0.1 mL染色缓冲液（1X）重悬细胞。
8. 加入推荐用量的一抗，4℃避光孵育20-40分钟。
9. 孵育完成后，加入1.5 mL染色缓冲液（1X）洗涤细胞，350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
10. 重复步骤9。
    - *注意：如果使用荧光染料偶联的一抗，请跳至步骤14。*
11. 使用染色缓冲液（1X）稀释二抗。加入0.1 mL稀释好的二抗，混匀，4℃避光孵育15-30分钟。
12. 孵育完成后，加入1.5 mL染色缓冲液（1X）洗涤细胞，350-500 x g离心5分钟，弃去上清。
13. 重复步骤12。
14. 加入0.2 mL染色缓冲液（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