流式细胞术Triton X-100通透实验方案

需要的试剂：

1. 4% PFA固定缓冲液（溶于1x PBS的4%多聚甲醛，pH调节至7.4）
2. 0.1% Triton X-100（溶于1x PBS）
3. 1x PBS
4. 流式细胞术的抗体

实验步骤：

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。
2. （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。
3. 用200 µL 4% PFA固定缓冲液重悬细胞，短暂涡旋，室温下避光孵育20分钟。
4. 350-500 x g离心5分钟，弃去上清。用1x PBS洗涤细胞2次，每次350-500 x g离心5分钟。
5. 按1 mL 0.1% Triton X-100中大约 1 x 10^6 个细胞的密度重悬细胞，室温下避光孵育15分钟。
6. 350-500 x g离心5分钟，弃去上清。用1x PBS洗涤细胞2次，每次350-500 x g离心5分钟。
7. 用 1x PBS 重悬细胞。
8. 在100 µL 细胞重悬液中孵育一抗，一抗的使用浓度根据建议或者滴定结果。
9. 4℃避光孵育45-60分钟。
10. 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。重复该步骤。
    - *注意：如果使用荧光染料偶联的一抗，请跳至步骤14.*
11. 在 100 µL 1x PBS稀释的荧光染料偶联二抗溶液中重悬细胞（使用推荐浓度稀释二抗）。
12. 4℃避光孵育45-60分钟。
13. 用 1x PBS洗涤细胞，350-500 x g 离心 5 分钟，弃去上清。
14. 用200-500 µL 1x PBS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