Intracellular Fixation/Permeabilization Buffer Kit

Cat. No: E-CK-A109 **Size: 50 Assays/100 Assays/500 Assays**

产品编号	产品名称	50 Assays	100 Assays	500 Assays	Storage
E-CK-A109A	Fixation Buffer	10 mL	20 mL	50 mL×2	2~8°C
E-CK-A109B	Permeabilization Buffer (5×)	15 mL	30 mL	50 mL×3	2~8°C
说明书			一份		

保存条件

2~8°C 可保存 1 年。

产品简介

Elabscience® Intracellular Fixation/Permeabilization Buffer Kit 是一款经过优化的专门针对细胞因子和趋化因子等细胞内抗原染色时所用的固定、破膜试剂。

使用说明

本试剂盒中 Permeabilization Buffer (5×) [E-CK-A109B] 为 5×浓缩液，实验前用去离子水稀释成 1×Permeabilization Working Solution。

例如：取 1 mL 的 Permeabilization Buffer (5×) [E-CK-A109B]，加入到 4 mL 去离子水中，充分混匀后的混合物即为 1×Permeabilization Working Solution。

注：1×Permeabilization Working Solution 建议现配现用，配制好的工作液尽量在 3 天内用完。

操作指南

1. 取 100 μL 细胞/管（约 1×10^6 个细胞）于流式管内。
2. [可选步骤] 根据说明书进行 Fixable Viability Dye（死活细胞鉴定染料，自备）染色。
3. [可选步骤] 根据实验需求对细胞悬液进行 Fc 受体封闭。
4. 按照抗体说明书加荧光标记抗体染细胞表面 Marker。
5. 孵育完成后加入 2 mL PBS（含 1% BSA）或 Cell Staining Buffer [E-CK-A107]重悬细胞，300×g 离心 5min，弃上清。
6. 加入 200 μL PBS（含 1% BSA）或 Cell Staining Buffer [E-CK-A107]重悬细胞，然后加入 200 μL Fixation Buffer 于室温避光孵育 30~60 min（室温低于 25°C 时请适当延长孵育时间到 60 min）。
7. 加入 1 mL 1×Permeabilization Working Solution，600×g 离心 5min，弃上清。
8. 加入 100 μL 1×Permeabilization Working Solution 重悬细胞，按照抗体使用说明书加入相应的胞内染色抗体，混匀后室温避光孵育 30 min。
9. 加入 2 mL PBS（含 1% BSA）或 Cell Staining Buffer [E-CK-A107]，600×g 离心 5 min，弃上清。
10. 加入适量 PBS 或 Cell Staining Buffer [E-CK-A107]重悬细胞，即可上机检测。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用。
2. Permeabilization Buffer (5×) 可能会出现沉淀，属于正常现象，不影响使用效果。
3. 对于有红细胞的样本，使用该产品前请先进行红细胞的裂解。
4. 固定和破膜步骤可能会改变细胞的光散射特性，并可能增加非特异性背景染色。在染色过程中加入 BSA 或胎牛血清（FBS）等有助于降低非特异性背景。此外，建议使用 Fixable Viability Dye（死活细胞鉴定染料），以帮助排除数据分析过程中的死细胞。
5. 本产品能与大部分商用流式抗体兼容，但某些抗原决定簇对固定剂敏感，固定时间需要根据实际情况进行优化。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 常规的细胞膜表面抗体染色后的细胞固定，固定条件参考上述操作指南第 6 条，某些特殊情况下，如细胞膜表面检测指标耐固定，且细胞需要延迟检测，可以调整细胞悬液和固定液比例到 3:1，混匀后在 4°C 固定过夜，再进行后续操作。