

1×流式破膜缓冲液(Saponin)（破膜剂）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8648	Permeabilization Buffer (Saponin, 1×)	100mL/500mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C 避光保存（请勿冷冻），有效期 12 个月

【概述】

本产品专门用于流式细胞术中胞内抗原检测的破膜处理。

作用机制：Saponin (皂苷) 是一种非离子型表面活性剂，能与细胞膜上的胆固醇特异性结合，诱导形成跨膜小孔（直径约 8-10 nm）。

产品特点：

- 温和性：**相比 Triton X-100 等强力去垢剂，Saponin 对细胞形态（FSC/SSC）的影响较小，能较好地保护抗原表位。
- 可逆性：**Saponin 的破膜作用是可逆的。必须在整个染色和洗涤步骤中始终保持破膜剂的存在，否则胞内孔道会闭合，导致抗体无法洗出或结合。

【操作方法】

以下流程以检测胞内细胞因子为例，仅供参考：

- 细胞收集：**收获待测细胞（约 1×10^6 个），4°C、300–500 g (约 1000–1500 rpm) 离心 5 分钟，弃上清。
- 固定：**加入 500 μ L 预冷的固定液（推荐 ED-9028 流式细胞固定液），室温孵育 10–20 分钟。*注：必须先固定后破膜，以锁定胞内蛋白质结构。*
- 洗涤：**离心后弃上清，加入 1 mL PBS 洗涤一次。
- 破膜：**弃上清，加入 1.5 mL 1×流式破膜缓冲液 (Saponin)，室温孵育 15 分钟。
- 离心：**300–500 g 离心 5 分钟，弃上清。

6. **抗体孵育:** 使用 100 μ L 1 \times 流式破膜缓冲液重悬细胞, 加入荧光标记的检测抗体, 避光孵育 30 分钟。专业提示: 此步必须使用破膜液而非普通 PBS, 以维持膜孔开启状态。

7. **洗涤与上机:** 加入 1–2 mL 破膜液洗涤一次, 离心弃上清后, 用 500 μ L 流式染色缓冲液 (或 PBS) 重悬, 立即上机分析。

【注意事项】

1. **维持破膜状态:** Saponin 的破膜效应在去除药剂后会消失。因此, 从破膜开始到染色结束的所有洗涤和稀释步骤, 均应使用本破膜缓冲液。
2. **防止挥发:** 表面活性剂溶液易产生气泡或挥发, 用后请及时拧紧瓶盖。
3. **安全防护:** 仅限科研使用。操作时请穿实验服、戴一次性手套, 避免接触皮肤和眼睛。