

## 10×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-8649	Permeabilization Buffer (Saponin,10×)	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：

- 使用前稀释（关键）：**10×母液请按 1:9 比例使用去离子水稀释（如 100 mL 母液+ 900 mL 纯水）。（注：货号 ED-8648 为 1×即用型，无需稀释）。
- 细胞收集：**收获待测细胞（约  $1 \times 10^6$  个），4°C、300–500 g (约 1000–1500 rpm) 离心 5 分钟，弃上清。
- 固定：**加入 500  $\mu$ L 预冷的固定液（推荐 ED-9028 流式固定液），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。

6. **离心:** 300–500 g 离心 5 分钟，弃上清。
7. **抗体孵育:** 使用 100  $\mu$ 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。*
8. **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  $\mu$ 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。