

## 流式细胞固定液使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-9032	Flow Cytometry Fixation Buffer	500mL
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

4°C 或 -20°C 避光保存，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前的细胞固定处理。

**作用机制：**通过在蛋白质分子间形成共价交联，迅速“锁定”细胞形态及胞内抗原（如细胞因子、酶等），防止其在破膜步骤中发生降解或渗漏。

#### 产品特点：

- 形态保护：**在有效固定的同时，最大限度地维持细胞的散射光特征（FSC/SSC）。
- 兼容性广：**适用于绝大多数表面抗原荧光标记后的固定，不影响已结合抗体的荧光强度。

### 【操作方法(仅供参考)】

以下流程以检测胞内细胞因子为例，仅供参考。实际操作请结合 ED-8648 破膜剂使用。

- 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(4°C)的固定液，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。
- 抗体孵育：**使用 100  $\mu$ L 1×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：此步必须使用破膜缓冲液而非普通 PBS，以维持膜孔开启状态。*

7. **洗涤与上机:** 加入 1–2 mL 破膜缓冲液洗涤一次, 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. **先表面后胞内:** 若需检测细胞表面标志物, 建议**先进行表面抗体染色**, 洗涤后再进行固定处理。
2. **防止结块:** 加入固定液时, 务必先将细胞沉淀弹散或涡旋混匀, 防止细胞在固定过程中发生粘连。
3. **固定时间:** 固定时间不宜过短 (防止破膜时抗原渗漏) 或过长 (超过 1 小时可能掩盖抗原表位或导致自发荧光升高)。
4. **安全防护:** 操作时请穿实验服、戴手套及口罩, 并在通风橱或洁净台内操作。