

Foxp3/转录因子染色固定&破膜试剂盒

Foxp3/Transcription Factor Staining Kit

货号: K081

规格: 20T

试剂盒组份:

Reagents	20T	Storage
Fixation Concentrate (4×)	5mL	2-8°C
Fixation Dilution Solution	15mL	2-8°C
Permeabilization Buffer (10×)	17mL	2-8°C

保存条件:

2-8° C for 6 months

产品介绍:

该产品 是一款经过优化的专门针对转录因子、核蛋白（例如 Foxp3 和 STAT3）等流式抗体进行细胞核内抗原染色时所用的固定、破膜试剂。

试剂配制:

1. 本试剂盒中 Fixation Concentrate (4×) 为 4× 浓缩液，实验前用 Fixation Dilution Solution 稀释成 1× Fixation Working Solution。
2. 本试剂盒中 Permeabilization Buffer (10×) 为 10× 浓缩液，实验前加去离子水稀释成 1× Permeabilization Working Solution。

实验步骤:

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）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 1 mL 细胞染色缓冲液[K079]， $300\times g$ 离心 5min，弃上清，再加入 100 μ L 细胞染色缓冲液[K079]重悬细胞。
6. 加入 1 mL $1\times$ Fixation Working Solution，涡旋混匀， 4°C 反应 30min，反应完后， $600\times g$ 离心 5min，弃上清。
7. 加入 2 mL $1\times$ Permeabilization Working Solution，涡旋混匀， $600\times g$ 离心 5min，弃上清。
8. 重复步骤 7。
9. 加入 100 μ L $1\times$ Permeabilization Working Solution 重悬细胞。
10. 按照抗体使用说明书加荧光标记的核染色抗体，混匀后室温避光孵育 30 min。
11. 加入 2 mL $1\times$ Permeabilization Working Solution， $600\times g$ 离心 5 min，弃上清。
12. 加入适量细胞染色缓冲液[K079]重悬细胞，即可上机检测。

注意事项:

1. Permeabilization Buffer ($10\times$)有沉淀属于正常现象，不影响使用效果。
2. 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 (FCS) 等蛋白质可能有助于减少非特异性背景。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。
3. 本产品仅限科研使用，不得用于临床诊断或治疗。
4. 为了您的安全和健康，请穿上实验服，戴上一次性手套。