



流式细胞术（胞内核内抗原）实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
流式细胞仪	BD	Cytoflex SRT/Celesta
50mL 离心管	科兔生物	KTL-50-P
1.5mL 离心管	科兔生物	KTL-15-P
流式管	Biosharp	21243
流式管	Biosharp	21212
细胞孔板	科兔生物	KTB-6

2、主要实验试剂

试剂名称	厂家	货号
DMEM 培养基	科兔生物	RG-CE-2
胰蛋白酶	科兔生物	RG-CE-12
PBS	科兔生物	RG-CE-10
FACS 缓冲液	Tonbo	TNB-4222-L500
胞内因子固定破膜剂	Elabscience	E-CK-A109
核内因子固定破膜剂	Tonbo	TNB-0607-KIT
XX 抗体		
XX 抗体		
XX 抗体		

二、实验步骤

- 1、收集细胞：对于培养中的待测细胞，弃去上清，加入 1 mL PBS 清洗一次，弃上清，再加入 1 mL 0.25%胰酶消化细胞，待细胞变圆且有部分细胞悬浮，即加入培养基终止消化。用移液枪轻轻吹打细胞，使细胞悬浮。细胞悬液转入 1.5mL 离心管中，1500 rpm 离心 5 min 收集细胞；
- 2、PBS 洗涤细胞：加入 1mL 4°C预冷的 PBS 完全重悬细胞，1500 rpm 离心 5 min，弃上清；
- 3、固定：加入 1mL 固定液与细胞混匀，室温固定 30min；



- 4、破膜、荧光标记：固定好的细胞用 4°C 预冷的 PBS 洗涤一遍，1500 rpm 离心 5 min，弃上清。加入 200 μ L 1% 皂素(超纯水配制)与直标抗体避光染色 30 min；
- 5、PBS 洗涤细胞：加入 500 μ L 4°C 预冷的 PBS 完全重悬细胞，1500 rpm 离心 5 min，弃上清。沉淀震荡混匀，用 200 μ L 的 4°C 预冷的 PBS 重悬细胞，沉淀吹吸混匀；
- 6、上机检测：根据直标抗体上荧光染料选择适合的通道进行上机检测，

三、数据分析

用 FlowJo 软件分析细胞阳性率。

仅供科研用途，不可用于临床诊断！