



【产品名称】细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒（含 RNase A）

【产品规格】

货号	规格	PI (25x)	染色缓冲液 25x	RNase A
P04D16	50T	0.75mL	20mL	0.2mL
P04D17	100T	1.5mL	40mL	0.4mL
P04D18	200T	3.0mL	80mL	0.8mL

【背景简介】

碘化丙啶(Propidium, 简称 PI)是一种双链DNA 的荧光染料。碘化丙啶和双链 DNA 结合后可以产生荧光, 并且荧光强度和双链DNA 的含量成正比。细胞内的 DNA 被碘化丙啶染色后, 可以用流式细胞仪对细胞进行DNA 含量测定, 然后根据DNA 含量的分布情况, 可以进行细胞周期和细胞凋亡分析。

碘化丙啶染色后, 假设G0/G1 期细胞的荧光强度为1, 那么含有双份基因组DNA 的G2/M 期细胞的荧光强度的理论值为 2, 正在进行 DNA 复制的S 期细胞的荧光强度则为 1~2 之间。凋亡细胞由于细胞核发生浓缩以及发生 DNA 片段化(DNA fragmentation) 导致部分基因组DNA 片段在染色过程中丢失, 因此凋亡细胞经碘化丙啶染色后呈现明显的弱染, 即荧光强度小于 1, 在流式检测的荧光图上出现所谓的 sub-G1 峰, 即凋亡细胞峰。细胞发生凋亡时, 由于胞浆和染色质浓缩、核碎裂, 产生凋亡小体, 使细胞的光散射性质发生变化。在细胞凋亡的早期, 细胞对前向角光散射的能力显著降低, 对侧向光散射的能力增加或没有变化。在细胞凋亡的晚期, 前向和侧向光散射的信号均降低。因此可通过流式细胞仪测定细胞光散射的变化观察细胞凋亡情况。

本试剂盒通常应用于培养的贴壁细胞或悬浮细胞的细胞周期与细胞凋亡检测。如果用于组织的细胞周期与细胞凋亡检测, 则必须把组织消化成单细胞状态, 才可以进行检测。本试剂盒每个样品的细胞数量可在 $10^5 \sim 10^6$ 范围内。

【试剂盒组份】

1. 染色缓冲液

体积: 20mL (50T)/40mL (100T)/80mL (200T)。

贮存: 2-8℃ 保存, 勿冰冻。

2. 碘化丙啶溶液 25X (Propidium Iodide, PI)

体积: 0.75mL (50T)/1.5mL (100T)/3.0mL (200T)。

贮存: PI 为有毒试剂, 操作时需佩戴手套, 2-8℃ 避光保存, 勿冰冻。

3. RNase A (2.5mg/mL)

体积: 0.2mL (50T)/0.4 mL (100T)/0.8mL (200T)。

贮存: -20℃ 保存。

【需要但未提供的仪器/试剂】:

1. 流式细胞仪, 离心机, 水浴锅,
2. 加样枪, 离心管
3. 去离子水, PBS, 95%乙醇





【操作流程（流式细胞仪）】

1. 细胞样品的准备:

a. 对于贴壁细胞: 小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用胰酶消化细胞, 至细胞可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时, 加入前面收集的细胞培养液, 吹打下所有的贴壁细胞, 并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000rpm左右离心3~5min, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞沉淀不充分, 可以适当延长离心时间或加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约50 μ L左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约1 mL冰浴预冷的PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。再次加入1mL冰浴预冷的PBS, 重悬细胞。

b. 对于悬浮细胞: 1000rpm左右离心3~5 min, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞沉淀不充分, 可以适当延长离心时间或加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约50 μ L的培养液, 以避免吸走细胞。加入约1 mL冰浴预冷的PBS, 重悬细胞, 并转移到1.5 mL离心管内。再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 可以残留约50 μ L的PBS, 以避免吸走细胞。再次加入1 mL冰浴预冷的PBS, 重悬细胞。

2. 细胞固定: 取4 mL冰浴预冷的95%乙醇, 低速涡旋震荡的同时逐滴加入1 mL细胞悬液(在冰上操作), 混匀后在4℃固定2小时或更长时间。固定12~24小时可能效果更佳。1000rpm左右离心3~5 min, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞沉淀不充分, 可以适当延长离心时间或加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约50 μ L乙醇, 以避免吸走细胞。加入约5mL冰浴预冷的PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 可以残留约50 μ L的PBS, 以避免吸走细胞。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞, 避免细胞成团。

3. 碘化丙啶染色液的配制: 参考下表, 根据待检测样品的数量配制适量的碘化丙啶染色液:

	1 个样品	6 个样品	12 个样品
染色缓冲液	0.4mL	2.4mL	4.8mL
碘化丙啶染色液(25X)	15 μ L	90 μ L	180 μ L
RNase A(2.5mg/ml)	4 μ L	24 μ L	48 μ L

注: 配制好的碘化丙啶染色液短时间内可以在4℃保存, 宜当日配制当日使用。

4. 染色: 每管细胞样品中加入0.4 mL碘化丙啶染色液, 缓慢并充分重悬细胞沉淀, 37℃避光温浴30 分钟。随后可以4℃或冰浴避光存放。染色完成后宜在24小时内完成流式检测, 最好能在当日完成流式检测。

5. 流式检测和分析: 用流式细胞仪在激发波长488nm 波长处检测红色荧光, 同时检测光散射情况。采用适当分析软件进行细胞DNA 含量分析和光散射分析。

【注意事项】

1. 所有试剂使用前均需短暂离心, 以避免液体挂壁导致的试剂量不足及浓度不均匀;
2. 由于检测细胞种类、仪器型号、操作习惯等差异, 各试剂组分使用量可在推荐使用量的基础上进行优化, 以取得更好的实验结果;
3. 荧光染料均存在淬灭问题, 保存和使用过程中请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭;
4. PI为有毒试剂, 操作时需佩戴手套;
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;





6. 此产品仅供科学研究用途，不可用于临床诊断。

【有效期】 参见试剂盒标注(一年)。

【相关产品】

1. Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒
2. Annexin V-Alexa Fluor 488/PI 凋亡检测试剂盒
3. Annexin V-Alexa Fluor 647/PI 凋亡检测试剂盒
4. Annexin V-PE/7-AAD 凋亡检测试剂盒

Version: 20190702 (第一版)





北京金普来生物科技有限公司

流式细胞术技术服务

仪器名称: ACEA 公司NOVOCYTED3130 流式细胞仪 (3 激光 13 色)

报告时间: 1-3 个工作日

编号	内容	价格
SP01	流式细胞检测开机费 (检测费大于500元免收)	500元
SP02	贴壁细胞消化 (客户提供胰酶)	15元/样本
SP03	贴壁细胞消化 (客户不提供胰酶)	25元/样本
SP04	样本处理费(染色费)	15元/样本
SP05	流式细胞术检测 (单色检测, 客户自带抗体) ≤30份样本	40元/样本
SP06	流式细胞术检测 (单色检测, 客户自带抗体) > 30份样本	30元/样本
SP07	流式细胞术检测 (双色检测, 客户自带抗体) ≤30份样本	60元/样本
SP08	流式细胞术检测 (双色检测, 客户自带抗体) > 30份样本	40元/样本
SP09	流式细胞术检测 (三色检测, 客户自带抗体) ≤30份样本	80元/样本
SP10	流式细胞术检测 (三色检测, 客户自带抗体) > 30份样本	60元/样本
SP11	细胞周期检测数据分析	15元/样本

电话: 010-64892983/4

技术: 18211096358

网址: www.biofriend.com.cn

邮箱: lab@biofriend.com.cn



友谊中联, 您的Bio Friend!

