



## 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒

### 产品简介

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒是一种采用经典的碘化丙啶染色方法进行细胞周期与细胞凋亡分析的检测试剂盒。

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。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 片断在染色过程中丢失, 因此凋亡细胞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。

### 储存和稳定性

-20℃ 保存, 一年有效。碘化丙啶染色液(20X)需避光保存。本试剂盒可 4℃ 保存, 一个月内有效。

### 注意事项:

- 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
- 需自备 PBS 和 70% 乙醇。
- 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。
- 碘化丙啶对人体有刺激性, 请注意适当防护。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 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。1000g 左右离心 3-5 分钟, 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稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约 50 微升左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约 1 毫升冰浴预冷的 PBS, 重悬细胞, 并转移到 1.5 毫升离心管内。再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 可以残留约 50 微升左右的 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。

b. 对于悬浮细胞: 1000g 左右离心 3-5 分钟, 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稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约 50 微升左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约 1 毫升冰浴预冷的 PBS, 重悬细胞, 并转移到 1.5 毫升离心管内。再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 可以残留约 50 微升左右的 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。

2. 细胞固定: 加入 1 毫升冰浴预冷 70% 乙醇中, 轻轻吹打混匀, 4℃ 固定 2 小时或更长时间。固定 12-24 小时可能效果更佳。1000g 左右离心 3-5 分钟, 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稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约 50 微升左右的 70% 乙醇, 以避免吸走细胞。加入约 1 毫升冰浴预冷的 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 微升左右的 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	0.5ml	3ml	6ml
碘化丙啶染色液(20X)	25 $\mu$ l	150 $\mu$ l	300 $\mu$ l
RNase A(50X)	10 $\mu$ l	60 $\mu$ l	120 $\mu$ l
Final volume	0.535ml	3.21ml	6.42ml

注: 配制好的碘化丙啶染色液短时间内可以 4℃ 保存, 宜当日使用。

4. 染色: 每管细胞样品中加入 0.5 毫升碘化丙啶染色液, 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。

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

**广州捷倍斯生物科技有限公司**

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email：genebase@vip.163.com WEB:www.gbcbio.cn