

细胞周期检测试剂盒说明书

RC0221

保存条件

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

产品信息

产品名称	产品货号	规格
细胞周期检测试剂盒	RC0221	50 次

产品简介

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒 (Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit) 采用经典的碘化丙啶染色 (PI staining) 方法, 通过流式细胞仪分析对细胞周期与细胞凋亡进行检测。细胞周期是指细胞从一次分裂完成开始到下一次分裂结束所经历的全过程, 在这个过程中, 细胞遗传物质复制并加倍, 且在分裂结束时平均分配到两个子细胞中去。细胞周期分为间期与分裂期 (M 期) 两个阶段, 间期又分为: 休眠期 (G0)、DNA 合成前期 (G1 期)、DNA 合成期 (S 期) 与 DNA 合成后期 (G2 期)。利用细胞内 DNA 能够和荧光染料 (如碘化丙啶) 结合的特性, 细胞各个时期其 DNA 含量不同从而结合的荧光染料不同, 检测到的荧光强度也不一样, 从而反应出细胞周期的各个期的状况, 即细胞增殖状况。

本试剂盒适用于培养的贴壁或悬浮细胞的细胞周期与细胞凋亡检测, 亦可用于区分细胞凋亡和细胞坏死。当用于组织的细胞周期与细胞凋亡检测时, 则须把组织消化成单细胞状态。该试剂盒检测每个样品细胞含量范围一般为 10^5 - 10^6 之间, 足够检测 50 个样品。

产品内容

组成	RM0391S
碘化丙啶 PI 染色液 (20×)	1.25mL
RNase A (50×)	0.5mL
染色缓冲液	25mL

使用方法

一、细胞收集:

1. a. 对于贴壁细胞: 收集细胞培养液至离心管内备用。常规方法用胰酶消化细

胞，用之前收集的细胞培养液终止消化，并轻轻吹散细胞，收集至离心管内。【注意：消化后的吹打需轻柔，避免细胞破碎】

b. 对于悬浮细胞：小心吸取所有含有细胞的培养基至离心管内。

2. 将以上收集的细胞 1000g 左右离心 3-5min，沉淀细胞。【若细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍加大离心力】小心吸弃上清，残留约 50 μl，以免吸走细胞。

3. 加入 1ml 预冷的 PBS，重悬细胞，并转移至 1.5ml 离心管内。再次 1000g 左右离心 3-5min，沉淀细胞，小心吸弃上清，残留约 50μl，以免吸走细胞。轻轻弹击离心管底，以适当分散细胞，避免细胞成团。

二、细胞固定：

1. 加入 1ml PBS 充分重悬，成单细胞，轻轻边涡旋边缓慢滴加 3ml 预冷的无水乙醇，至终浓度 75%，4°C固定 4h 以上，或者 4°C静置过夜（18-24h）效果更佳。【固定后的细胞可以-20°C保存一个月】

2. 将固定好的细胞悬液 1000g 左右离心 3-5min，沉淀细胞。【若细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍加大离心力】小心吸弃上清，残留约 50μl，以免吸走细胞。

3. 加入 1ml 预冷的 PBS，重悬细胞，再次 1000g 左右离心 3-5min 沉淀细胞，小心吸除上清，残留约 50μl，以免吸走细胞。轻轻弹击离心管底，以适当分散细胞，避免细胞成团。

三、染色工作液的配制：

按照染色缓冲液：碘化丙啶 PI 染色液(20X)：RNase A(50X)=100:5:2 的比例混合配置呈染色工作液，请参考下表，根据样品数量选择合适的工作液体积：

	1 个样品	n 个样品
染色缓冲液	500μL	500 x n μL
碘化丙啶 PI 染色液(20X)	25μL	25 x n μL
RNase A(50X)	10μL	10 x n μL
总体积	535μL	535 x n μL

【注意：配制好的染色工作液短时间内可以 4°C保存，宜当天使用。】

四、染色：

每管细胞样品加入 500 μ l 染色工作液，轻柔并充分重悬细胞沉淀，37 $^{\circ}$ C 避光温浴 30min。染色完成后置于 4 $^{\circ}$ C 避光存放，宜在 24h 内完成流式上机检测。

五、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. 请使用流式细胞仪进行检测，进样速度调为低速，若峰形较宽，可能因为进样速度太快。
2. 请按照说明书提供的细胞固定方法进行操作，尽量获得单个细胞，并避免 DNA 的降解。
3. 细胞样品尽量减少碎片的产生，请注意不要消化过度，不可过度吹打，离心转速不能过高。
4. 需自备 PBS 和无水乙醇。
5. 荧光染料均存在淬灭问题，碘化丙啶 PI 染色液保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。建议染色后尽量当天完成检测。
6. 碘化丙啶对人体有刺激性，操作时请小心，并注意适当防护以避免直接接触人体或吸入体内。
7. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。