



CellCycle™ PI/RNase Staining Solution

产品包装

产品编号	产品名称	包装	保存条件
A056	CellCycle™ PI/RNase Staining Solution	50 mL (100次)	4°C: 一年 避光保存

激发/发射波长: 535/617 nm.

产品概述

DNA含量的测定可以用来研究细胞在各阶段周期的分布以及DNA倍体的分析。在给定群体中, 细胞主要分布在细胞周期的三个阶段: G0 / G1期, S期和G2 / M期。在G2 / M期, 细胞含双份基因组DNA, 是G0 / G1期细胞的2倍, 而正在进行DNA复制的S期细胞的DNA含量介于二者之间。当选用DNA选择性染料来测量DNA含量时, 其荧光强度与DNA含量成正比。细胞内的DNA被染色后, 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, 可以进行细胞周期分析。

CellCycle™ PI/RNase 染色液是一种特制的即用型试剂。只需将其添加到固定的细胞中, 孵育后直接在流式细胞仪上测定, 无需洗涤。

操作说明

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。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。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°C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。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. 染色: 每管细胞样品中加入0.5毫升CellCycle™ PI/RNase染色液, 缓慢并充分重悬细胞沉淀, 37°C避光温浴30分钟。随后可以4°C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。

4. 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。