

Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒

Cat No. 40301

产品说明书

本产品仅作科研用途!

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit	40301ES50	50 T
细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒	40301ES60	100 T

产品描述

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒 (Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit) 采用了经典的碘化丙啶染色 (Propidium staining, 即 PI staining) 方法对细胞周期与细胞凋亡进行分析。

碘化丙啶 (Propidium, PI) 是一种双链DNA荧光染料, 其嵌入双链DNA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PI染色后, 可以用流式细胞仪对细胞进行DNA含量测定, 根据DNA含量的分布情况, 进行细胞周期和细胞凋亡分析。

PI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PI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。

细胞凋亡也可以用流式细胞仪观察细胞光散射的变化来检测。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。凋亡前期, 染色质皱缩, 细胞密度增加, 前向角光散射色显著降低。凋亡后期, 细胞产生凋亡小体, 前向角光散射和侧向角光散色都显著降低。

本试剂盒通常应用于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。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		40301ES50 (50 T)	40301ES60(100 T)
40301-A	RNase A Solution	0.5 mL	1 mL
40301-B	PI Solution	0.5 mL	1 mL
40301-C	Staining Solution	25 mL	25 mL*2

运输与保存方法

运输: 冰袋 (wet ice) 运输。

保存方法: -20°C 避光保存, 有效期为2年。

【注】如果需要在短时间内多次重复使用, 可以于4°C 避光保存, 2个月内有效。

注意事项

- 1) 本试剂盒需要使用流式细胞仪进行检测。
- 2) 细胞处理需轻柔, 尽量避免人为的损伤细胞。
- 3) 为防止不同批次细胞在实验时所处周期不同导致重复性差, 可以在实验前进行细胞的同步化处理。实验细胞应处于对数生长期, 贴壁细胞一般在50~80%汇合度时收集为宜。
- 4) 400目筛网过滤是用来将粘在一起的细胞团滤掉, 留下单细胞, 否则会出现人为的多倍体干扰。如果没有条件过滤, 请在染色之前将细胞轻弹以分散, 再进行染色。
- 5) 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。
- 6) 操作碘化丙啶时, 应注意防护, 保护眼睛、避免吸入。
- 7) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8) 本产品仅作科研用途!

使用方法

1) **细胞样品制备:** 细胞数量控制在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个。

a) **贴壁细胞:** 小心吸除细胞培养液, 用胰酶消化细胞, 制备成单细胞悬液。1000 g 离心 5 min, 沉淀细胞, 弃上清, 用 1 mL 预冷的 PBS 润洗细胞一次, 离心收集细胞。

b) **悬浮细胞:** 1000 g 离心 5 min, 沉淀细胞, 小心吸除上清。加入 1 mL 预冷的 PBS, 重悬细胞, 再次离心收集细胞。

c) **组织细胞:** 将组织块用剪刀剪成尽量小的小块后, 用 0.25% 的胰酶消化 0.5-1 h, 经过 200-400 目筛网过滤得到单细胞悬液。1000 g 离心 5 min, 沉淀细胞。加入约 1 mL 预冷的 PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞。如组织难以消化, 可加入适量胶原酶。

2) **细胞固定:** 细胞沉淀用 1 mL 预冷的 70% 乙醇轻轻混匀, 4°C 固定 2 h 以上或者过夜。接下来 1000 g, 离心 5 min 沉淀细胞后, 用 1 mL 预冷的 PBS 重悬。然后再次 1000 g 离心 5 min 沉淀细胞。

3) **染色:**

在 0.5 mL 染色缓冲液(40301-C)中加入 10 μ L 碘化丙啶储液 (40301-B) 和 10 μ L RNase A (40301-A) 溶液, 混匀待用。

每个细胞样品加入 0.5 mL 配置好的碘化丙啶染色液, 轻轻混匀重悬细胞。37°C 避光孵育 30 min, 就可以进行流式检测, 流式检测最好在 5 h 内完成。

【注】: 配置好的 PI 染色液在短时间内可以 4°C 保存, 宜当日使用。

4) **流式检测和分析:** 细胞用 400 目筛网过滤, 用流式细胞仪进行检测, 在激发波长 488 nm 波长处检测, 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。