

碘化丙啶 PI 染色液(1mg/ml)

产品货号: R22049

产品规格: 1ml/10*1ml

产品简介:

碘化丙啶染色(PI stain)可以对细胞周期与细胞凋亡进行分析。碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI)是一种可以嵌合到双链 DNA 和 RNA 的碱基对中并与之结合的荧光染料,无碱基特异性。碘化丙啶与双链 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 Propidium Iodide 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的分析。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。

细胞凋亡时,流式细胞检测可呈现亚二倍体核型的特征,根据光散射的特点,PI 染色可以区分细胞凋亡和细胞坏死的细胞峰型。细胞凋亡时,出现凋亡细胞皱缩、染色质浓缩、核碎裂,产生凋亡小体,使细胞的前向光散射低于正常。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。细胞坏死时细胞多表现为细胞肿胀,因此前向光散射高于正常,对侧向光散射高于正常。

尚宝生物 碘化丙啶 PI 染色液(1mg/ml)主要由 PI、破膜剂等组成,经常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。尚宝生物PI 染色液工作浓度为 20~50 μ g/ml,不含 RNase,推荐用于 RNA 染色,细胞检测含量范围一般为 0.1~1 $\times 10^6$ 之间。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
PI Stain(1mg/ml)	1ml	-20 $^{\circ}$ C, 避光

自备材料:

1. 胰蛋白酶消化液
2. 流式细胞仪
3. PBS
4. 预冷固定液: 预冷的 70%乙醇或 4%多聚甲醛

操作步骤:

1. 细胞样品的制备:

(1)贴壁细胞:

- ①小心收集细胞培养液到一个无菌离心管内备用。
- ②用胰蛋白酶消化细胞至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。
- ③收集上述细胞悬液到离心管内。
- ④4 $^{\circ}$ C, 1000g 离心 3~5min,使细胞沉到管底。小心吸取上清并丢弃,可留大约 50 μ l培养液,以免吸走细胞。
- ⑤加入约 1ml 提前预冷的 PBS,重悬细胞,并转移至 1.5ml 无菌离心管。
- ⑥4 $^{\circ}$ C, 1000g 离心 3~5min,使细胞沉到管底。
- ⑦小心吸取上清并丢弃,可留大约 50 μ l PBS,以免吸走细胞。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

⑧轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

(2)悬浮细胞：

①4℃，1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底。

②小心吸取上清并丢弃，可留大约 50μl 培养液，以免吸走细胞。

③加入约 1ml 提前预冷的 PBS，重悬细胞，并转移至 1.5ml 无菌离心管。

④4℃，1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底。

⑤小心吸取上清并丢弃，可留大约 50μl PBS，以免吸走细胞。

⑥轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

2. 细胞的固定：加入 1ml 冰浴预冷 70%乙醇中，轻轻吹打混匀，4℃条件下固定 2h 或更长时间。4℃固定 12~24h 可能效果更佳。

3. 细胞的清洗：

①4℃，1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底。

②小心吸取上清并丢弃，可留大约 50μl 溶液，以免吸走细胞。

③加入约 1ml 提前预冷的 PBS，重悬细胞，并转移至 1.5ml 无菌离心管。

④4℃，1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底。

⑤小心吸取上清并丢弃，可留大约 50μl PBS，以免吸走细胞。

⑥轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

4. PI 染色：在每个待检细胞样品中加入 500μl 配制好的 PI 染色工作液，轻轻重悬细胞沉淀，置于 37℃避光水浴 30min。

5. 检测与分析：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 或 RNA 含量分析和光散射分析。

染色结果：

凋亡细胞 G1 峰左侧出现亚二倍体细胞群的峰型，在光散射谱上，前向光散射低于正常，侧向光散射高于正常。

注意事项：

1. 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。

2. 为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。

3. 在为了获得细胞沉淀的离心的过程中，对于特殊细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当提高离心力或延长离心时间。

4. 如果用于组织的细胞周期与细胞凋亡检测，则必须把组织消化后，制备成单细胞悬液，才可以进行检测。

5. 细胞凋亡时，凋亡细胞的标志之一是 DNA 可染行降低，但这种情况并非绝对的，DNA含量的降低或者 DNA 与染料结合能力下降也会导致 DNA 可染行降低，在分析的时候应特别注意。

6. PI 对人体有一定刺激性，请注意适当防护。

7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：-20℃储存，6 个月有效。4℃储存，1 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com