

碘化丙啶 PI 染色液 (50 μ g/ml)

产品货号: G6230

产品规格: 10ml/50ml

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)是一种可以嵌入到双链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(50 μ g/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。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。

产品内容:

产品名称	规格	保存温度
碘化丙啶PI染色液 (50 μ g/ml)	10ml/50ml	-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 (仅供参考):

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。
 - ④ 4 $^{\circ}$ 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。



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

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- ⑥ 4℃, 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 μl PBS, 以免吸走细胞。
 - 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:
- ① 4℃, 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50 μl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。
 - ④ 4℃, 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50 μl 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50 μl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50 μl 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500 μl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

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不细胞凋亡检测, 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

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com