

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒

产品货号: R21806

产品规格: 50T/100T

产品简介:

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit)是一种采用经典的碘化丙啶染色 (PI staining)方法进行细胞周期与细胞凋亡分析的检测试剂盒。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 Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit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。该试剂盒检测细胞含量范围一般为 $0.1 \sim 1 \times 10^6$ 之间。

产品组成:

| 名称 | 50T | 100T | 保存条件 |
|------------------------------|-------|------|-----------|
| 试剂(A): PI Stain Buffer | 25ml | 50ml | -20°C |
| 试剂(B): PI Stain(20×) | 1.5ml | 3ml | -20°C, 避光 |
| 试剂(C): RNase A Solution(50×) | 0.5ml | 1ml | -20°C |

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°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50μl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。
- ⑥ 4°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50μl 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。



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

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(2) 悬浮细胞:

- ① 4°C, 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。
- ④ 4°C, 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°C条件下固定2h或更长时间。4°C固定12~24h可能效果更佳。

3. 细胞的清洗:

- ① 4°C, 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。
- ④ 4°C, 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:

(1) 一步法:

①PI 染色工作液的配制: 根据待检样品的数量, 取适量试剂(A)、试剂(B)、试剂(C)混合形成PI染色工作液。配制好的PI染色工作液4°C避光保存待用, 24h有效。

| | 1个样品 | 10个样品 |
|------------------------------|-------|--------|
| 试剂(A): PI Stain Buffer | 500ul | 5ml |
| 试剂(B): PI Stain(20×) | 25ul | 250ul |
| 试剂(C): RNase A Solution(50×) | 10ul | 100ul |
| 总量 | 535μl | 5.35ml |

②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°C避光水浴 30min。

(2) 两步法:

①在沉淀细胞中加入40μl PBS和10μl RNase A Solution(50×), 置于37°C水浴30min。

②PI染色工作液的配制: 根据待检样品的数量, 取适量试剂(A)、试剂(B)混合形成PI染色工作液。配制好的 PI 染色工作液4°C避光保存待用, 24h有效。

| | 1个样品 | 10个样品 |
|------------------------|-------|--------|
| 试剂(A): PI Stain Buffer | 500ul | 5ml |
| 试剂(B): PI Stain(20×) | 25ul | 250ul |
| 总量 | 525μl | 5.25ml |

③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4°C避光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。



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