

## 概述

DNA含量分析在流式细胞检测中，占有相当大的比例。通过这种方法，研究者可以进行抗癌药物的毒性评估，并对恶性肿瘤细胞的预后效果及进展程度进行分析。在细胞周期检测中，DNA含量也同样作为重要的分析手段而被广泛应用。通过细胞DNA含量的测定，可计算各细胞周期的百分率，也可通过DNA片段化检测、DNA双染标记等方法检测细胞凋亡。

Cell Cycle Assay Kit - PI/RNase Staining试剂盒，可快速完成细胞周期的分析，操作简便。本产品使用碘化丙啶 (PI) 作为DNA荧光染料，通过流式细胞术得到细胞周期中G0/G1，G2和S期细胞的比例。

## 试剂盒内含

50 tests :

- PI Solution ..... 1.25 ml × 1
- RNase Solution ..... 0.125 ml × 1
- Assay Buffer ..... 25 ml × 1

## 储存条件

0-5 避光

## 所需的设备和材料

- 流式细胞仪 (PI:  $\lambda_{ex}=535\text{ nm}$  ,  $\lambda_{em}=617\text{ nm}$ )
- 37 培养箱
- PBS缓冲液
- 1.5 ml微量管
- 100-1,000  $\mu\text{l}$ 、20-200  $\mu\text{l}$ 、2-20  $\mu\text{l}$ 移液器

## 溶液制备

本产品在固定细胞及不细胞固定的情况下皆可使用。

**配制Working Solution (1 sample)**

取500  $\mu\text{l}$  Assay Buffer 后，分别加入25  $\mu\text{l}$  PI Solution和2.5  $\mu\text{l}$  RNase Solution。

**\* 工作液易遇光分解，请在使用前立即配制并用铝箔纸包裹避光保存。**

**配制好的工作液需在1天内用完。**

## 操作步骤

**非固定细胞**

1. 将细胞密度调整为 $1 \sim 5 \times 10^6\text{ cells/ml}$ 。<sup>a)</sup>
2. 取1 ml的细胞悬液加入到1.5 ml微量管中，在 $1,000 \times g$ 离心3 min。<sup>b)</sup>
3. 弃上清液后加入1 ml PBS缓冲液清洗细胞，在 $1,000 \times g$ 离心3 min。
4. 弃上清液后加入0.5 ml Working Solution。
5. 在4 避光培养30 min。
6. 涡旋振荡使细胞分散，在37 避光培养30 min。
7. 涡旋振荡使细胞分散，用尼龙筛网过滤，以去除样品中的细胞团块。<sup>c)</sup>
8. 用流式细胞仪检测。

a) 贴壁细胞用胰蛋白酶-EDTA消化细胞后，用PBS洗涤并离心收集细胞。

b) 根据不同的细胞种类，需适当调整转速与离心时间。

c) 样品处理后，剩余部分无法继续保存并使用。

## 固定细胞

1. 将细胞密度调整为 $1 \sim 5 \times 10^6$  cells/ml。 <sup>a)</sup>
2. 取1 ml的细胞悬液加入到1.5 ml微量管中，在 $1,000 \times g$ 离心3 min。
3. 弃上清，并在细胞团中加入1 ml的-20 °C保存的70%乙醇。
4. 涡旋振荡使细胞分散，在4 °C下静置2 h。 <sup>b)</sup>
5. 在 $1,000 \times g$ 离心3 min后，去除乙醇。 <sup>c)</sup>
6. 加入1 ml PBS缓冲液清洗细胞，在 $1,000 \times g$ 离心3 min。
7. 弃上清液后加入0.5 ml Working Solution。
8. 涡旋振荡使细胞分散，在37 °C避光培养30 min。
9. 涡旋振荡使细胞分散，在4 °C避光培养30 min。
10. 涡旋振荡使细胞分散，用尼龙筛网过滤，以去除样品中的细胞团块。 <sup>d)</sup>
11. 用流式细胞仪检测。
  - a) 贴壁细胞用胰蛋白酶-EDTA消化细胞后，用PBS洗涤并离心收集细胞。
  - b) 根据不同的细胞种类，需适当调整固定时间。
  - c) 根据不同的细胞种类，需适当调整转速与离心时间。
  - d) 样品处理后可以于4 °C以下保存并继续使用，但是保存时间长短与细胞种类有关。

## 参考文献

Deitchi, A.rline D. *et al.*, "A Stable Propidium Iodide Staining Procedure for Flow Cytometry", *J Histochem Cytochem.*, **1982**, 30(9), 967-972.



如果您需要更多的信息或者有任何问题可以通过以下方式联系我们：

网址：<http://www.dojindo.cn>

E-mail: [info@dojindo.cn](mailto:info@dojindo.cn)

上海

北京

上海市零陵路899号飞洲国际广场27楼J座

北京市朝阳区德外马甸裕民路12号元辰鑫大厦E1-210室

邮编：200030

邮编：100029

电话：400-823-9388

电话：010-8225-1765

2018年9月