

碘化丙啶 PI 染色液(50 μ g/ml)

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。

Leagene 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, 其工作浓度多为 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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	DA0022	Storage
PI Stain(50 μ g/ml)		10ml	-20 $^{\circ}$ C 避光
使用说明书		1 份	

自备材料:

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

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,收集上述细胞悬液到离心管内。
- ③ 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 50 μ l 培养液,以免吸走细胞。
- ④ 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。
- ⑤ 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 50 μ l 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) 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 50 μ l 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,小心吸取上清并丢弃,可留大约 50 μ l PBS,以免吸走细胞。
- ⑤ 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 50 μ l 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,小心吸取上清并丢弃,可留大约 50 μ l PBS,以免吸走细胞。
- ⑤ 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 μ l 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,在 24h 内进行染色或流式细胞仪分析。

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：6 个月有效；低温运输，-20℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
CC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
CC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
DA0001	DAPI 染色液(5ug/ml)
DA0020	Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒
DA0065	台盼蓝染色液(0.4%)
DC0032	Masson 三色染色液
NH0043	SSC 缓冲液(20×,pH7.0)
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)