碘化丙啶 PI 染色液 (50μg/ml, 含 RNase)

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。

碘化丙啶 PI 染色液 (50μg/ml, 含 RNase) 主要由 PI 、破膜剂、 RNase 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 ~ 50μg/ml，推荐用于 DNA 染色，细胞检测含量范围一般为 0.1 ~ 1×10^6 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:

编号 / 名称	GCDA0023	Storage
PI Stain(50μg/ml, 含 RNase)	10ml	-20℃ 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℃ 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。

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℃ 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 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℃ 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℃ 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 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℃ 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:

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 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℃ 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 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 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 ，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，但这种情况并是绝对的， 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
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液 (10×PBS, 无钙镁)
GCCC0130	胰蛋白酶 -EDTA 溶液 (0.25%:0.02%)
GCDA0001	DAPI 染色液 (5ug/ml)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCIH0252	荧光封片剂
GCNH0043	SSC 缓冲液 (20×,pH7.0)
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒 (DNS 比色法)