

细胞周期检测试剂盒(红色荧光)

货号: FNCK113

规格: 20T/50T/100T

试剂盒组份:

Cat.	Reagents	20T	50T	100T
FNCK113A	RNase A Reagent	1mL*2	5mL*1	5mL*1
FNCK113B	PI Reagent	8mL*1	10mL*2	10mL*4

保存条件:

RNase A Reagent 适当分装后-20°C 可保存 1 年。PI Reagent 2-8°C 避光可保存 1 年。

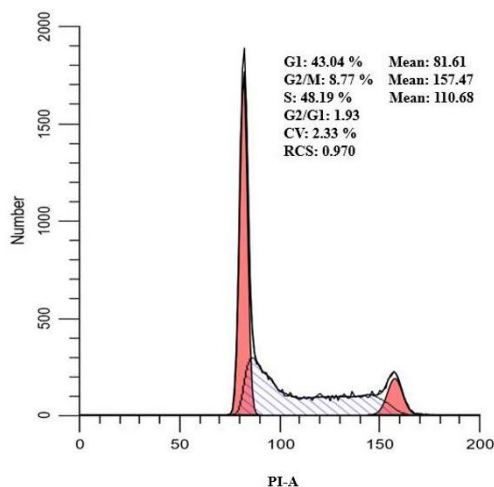
实验原理:

细胞周期检测试剂盒(红色荧光)是通过检测 DNA 含量来检测细胞周期的试剂盒。本试剂盒可应用于悬浮或贴壁培养细胞的 DNA 含量(细胞周期)检测。

细胞周期 (cell cycle) 是指连续分裂细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂结束所经历的整个过程。在这个过程中, 细胞遗传物质复制并加倍, 且在分裂结束时平均分配到两个子细胞中去。细胞周期可以分为分裂间期 (interphase) 和有丝分裂期 (M phase), 分裂间期又可以细分为休眠期 (G₀), DNA 合成前期 (G₁), DNA 合成期 (S), DNA 合成后期 (G₂)。利用细胞内 DNA 能够和某些特定荧光染料结合的特性, 细胞各个时期其 DNA 含量不同从而结合的荧光染料的量不同, 通过流式细胞仪检测荧光强度即可反映细胞周期变化情况。

PI 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 DNA 片段化 (DNA fragmentation) 导致部分基因组 DNA 片段在染色过程中丢失, 因此凋亡细胞在染色后呈现明显的弱染, 即荧光强度小于 1, 在流式检测的结果图上出现所谓的 sub-G₁ 峰, 即凋亡细胞峰。

下图为 70%乙醇固定过夜后的 Jurkat 细胞, 用本试剂盒检测的细胞周期结果:



实验步骤:

1. 准备工作
 - A. 无水乙醇-20° C 冰箱过夜。
 - B. RNase A Reagent 溶解后混匀, 冰浴备用。
2. 样本处理
 - 1) 按实验方案对细胞进行处理后, 收集约 5×10^5 细胞。
 - 2) $300 \times g$ 离心 5 min, 弃上清。
 - 3) 加入 1 mL PBS 洗涤, $300 \times g$ 离心 5 min, 弃上清。
 - 4) 加入 0.3 mL 的 PBS 重悬细胞。
3. 逐滴加入 0.7 mL 的-20° C 无水乙醇, 充分混匀后置于-20° C 冰箱中 1h 或过夜。
4. $300 \times g$ 离心 5 min, 弃上清, 加入 1 mL 的 PBS 重悬细胞, 室温放置 15 min。
5. $300 \times g$ 离心 5 min, 弃上清, 加入 100 μ L 的 RNase A Reagent 并充分悬浮细胞, 37° C 水浴 30 min。
6. 加入 400 μ L 的 PI Reagent 并充分混匀, 2-8° C 避光孵育 30 min。
7. 立即上机检测, 记录激发波长 488nm 处红色荧光。

注意事项:

1. 保质期 1 年, 为获得最佳的使用效果, 请在 3-6 个月内使用。
2. 实验结果需用流式细胞仪进行检测。
3. 荧光物质均易发生淬灭, 在进行荧光观察时, 尽量缩短观察时间, 同时在操作和存放过程中也尽量注意避光。
4. PI Reagent 对人体有刺激, 操作时请小心, 并注意适当防护以免直接接触人体或吸入体内。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。