

(本试剂仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

细胞周期检测试剂盒 (DNA 含量检测)

货号: E-CK-A351

规格: 20 T / 50 T / 100 T

产品编号	产品名称	20 T	50 T	100 T	Storage
E-CK-A351A	RNase A 溶液	1 mLx2	5 mL	10 mL	-20°C
E-CK-A351B	碘化丙啶 (PI)	8 mL	10 mLx 2	10 mLx 4	2~8°C
说明书				一份	

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

全国免费电话 400-9627-365
销售部电话 027-65022280, 027-87854967
技术部电话 027-65521719
电子邮箱 (销售) Perry@elabscience.cn
电子邮箱 (技术) Flow@elabscience.cn
QQ 客服 800110755
网址 www.elabscience.cn

联系时请提供产品货号(见标签)，以便我们更高效地为您服务。

产品简介

Elabscience®的细胞周期检测试剂盒(DNA 含量检测) 是通过检测 DNA 含量来检测细胞周期的试剂盒。本试剂盒可应用于培养细胞（悬浮、贴壁）的 DNA 含量（细胞周期）检测。

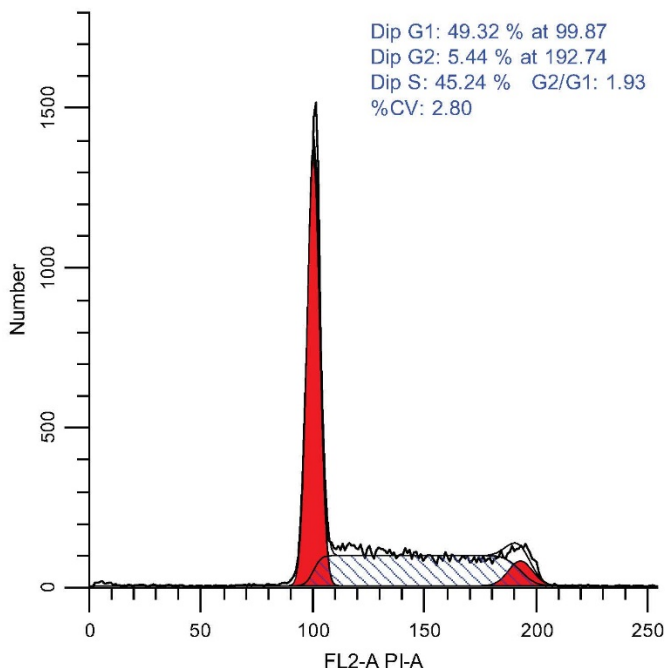
检测原理

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全过程。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。细胞周期又可以分为间期（interphase）和有丝分裂期(M phase)，细胞间期又常划分为休眠期（G0），DNA 合成前期（G1），DNA 合成期（S），DNA 合成后期（G2）。DNA 周期检测可用来反应细胞周期的各个时期的状况，即细胞增殖状况。利用细胞内 DNA 能够和荧光染料（如碘化丙啶—PI）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不同，流式细胞仪检测的荧光强度也不一样可检测细胞不同周期。

细胞发生凋亡时，由于胞浆和染色质浓缩、核裂解，产生凋亡小体，使细胞的光散射性质发生变化。在细胞凋亡的早期，细胞前向光散射能力显著降低，侧向光散射能力增加或没有变化。在细胞凋亡的晚期，前向和侧向散射的信号均降低。因此可通过流式细胞仪测定细胞光散射的变化观察凋亡细胞。

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。

本试剂盒检测经 70%乙醇固定过夜后的 Molt-4 细胞周期效果如下图所示：



实验操作指南步骤

1. 准备工作

- A. 无水乙醇-20°C 冰箱过夜。
- B. RNase A 溶液溶解后混匀，冰浴备用。

2. 样本处理

A. 悬浮细胞

- 1) 按常规方法离心 (300 g 离心 5 min) 收集约 5×10^5 细胞。
- 2) 小心吸除上清，确保没有细胞被吸除，PBS 洗涤一次，吸除上清。
- 3) 加入 0.3 mL 的 PBS 重悬细胞。

B. 贴壁细胞

- 1) 按常规方法胰酶消化贴壁细胞，收集约 5×10^5 细胞。
- 2) PBS 洗涤一次，吸除上清。
- 3) 加入 0.3 mL 的 PBS 重悬细胞。

3. 单细胞悬液全部转移至 1.2 mL 的 -20°C 无水乙醇中，并涡旋激烈震荡后置于 -20°C 冰箱中 1h 或过夜。
4. 300 g 离心 5 min，吸尽上清后，加入 1 mL 的 PBS 重悬细胞，室温放置 15 min。
5. 300 g 离心 5 min，吸尽上清后，加入 100 μ L 的 RNase A 并充分悬浮细胞，37°C 水浴 30 min。
6. 加入 400 μ L 的 PI 溶液并充分混匀，2~8°C 避光孵育 30 min。
7. 立即上机检测，记录激发波长 488 nm 处红色荧光。

保存条件

RNase A 溶液[E-CK-A351A]需-20°C 保存。碘化丙啶 (PI) [E-CK-A351B]需 2~8°C 避光保存。

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. 碘化丙啶 PI 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，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。