

细胞周期检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
CL0016	Cell Cycle Assay Kit (Red Fluorescence)	50rxns, 27.5mL

一. 产品简介:

细胞周期是指细胞从一次分裂结束起到下一次分裂结束为止的活动过程，分为间期与分裂期两个阶段。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），整个周期可表示为G1→S→G2→M。

PI法是经典的周期检测方法，PI是碘化丙啶(Propidium)，一种双链DNA的荧光染料，碘化丙啶和双链DNA结合后可产生荧光，并且荧光强度和双链DNA的含量成正比。细胞内的DNA被碘化丙啶染色后，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，可进行细胞周期和细胞凋亡分析。

通常正常细胞的G0/ G1 期具有二倍体细胞的DNA含量(2N)，G2/ M 期具有四倍体细胞的DNA含量(4N),而S期的DNA含量介于2N和4N之间。细胞用冰乙醇固定通透后，PI可以与细胞的DNA结合，其荧光强度直接反映了细胞内DNA含量。

因此，可以通过流式细胞内DNA含量进行检测，将细胞周期区分为G1/G0 期，S 期和G2/M 期，并可得出各个时期细胞百分数。

二. 操作步骤

• 细胞样品的准备:

1. 对于贴壁细胞:

- 小心收集细胞培养液到一离心管内备用。
- 用胰酶消化细胞，至细胞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。
- 再次收集到离心管内。1000g左右离心3-5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。
- 小心吸除上清，可以残留约50μL左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约1mL冰浴预冷的PBS，重悬细胞，并转移到1.5mL离心管内。
- 再次离心沉淀细胞，小心吸除上清，可以残留约50μL左右的PBS，以避免吸走细胞。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

2. 对于悬浮细胞:

- 1000g左右离心3-5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。
- 小心吸除上清，可以残留约50μL左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约1mL冰浴预冷的PBS，重悬细胞，并转移到1.5mL离心管内。
- 再次离心沉淀细胞，小心吸除上清，可以残留约50μL左右的PBS，以避免吸走细胞。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

• 细胞固定

1. 加入1mL冰浴预冷70%乙醇中，轻轻吹打混匀，4°C固定30min或更长时间。通常固定2h或以上更能保证染色效果，固定12-24h可能效果更佳。
2. 1000g左右离心3-5分钟，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。
3. 小心吸除上清，可以残留约50μL左右的70%乙醇，以避免吸走细胞。加入约1mL冰浴预冷的PBS，重悬细胞。
4. 再次离心沉淀细胞，小心吸除上清，可以残留约50μL左右的PBS，以避免吸走细胞。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

• 细胞染色

每管细胞样品中加入0.5mL碘化丙啶染色液，缓慢并充分重悬细胞沉淀，37°C避光温浴30min。随后可以4°C或冰浴避光存放。染色完成后应尽快完成检测。

• 流式检测和分析

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含量分析和光散射分析。

三. 保存条件

-20°C避光保存，一年有效。

注意事项

1. 本试剂盒足够检测50个样品，每个样品的细胞数量可以为10-100万。
2. 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
3. 需自备PBS和70%乙醇，PBS (N-PBS500)可以向诺思生物订购。
4. 碘化丙啶（PI）染色液保存和使用过程中应注意避光。
5. 荧光染料都存在淬灭问题，建议染色后快完成检测。
6. 本实验上机检测所需收集细胞量较多，收集细胞时尽量多收集一些。
7. 本实验对细胞离心，重悬次数较多，注意动作轻缓，避免过多地损伤细胞。
8. 培养细胞时，以对数期处理为宜，避免细胞量过少导致收集细胞量不足或者细胞量过多导致细胞开始大量死亡造成的实验误差。
9. 染液等物质有一定毒性，为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。