



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

碘化丙啶 PI 染色液(1mg/ml)

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(1mg/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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

组成:

名称 \ 编号	R20287		Storage
	1ml	10×1ml	-20℃ 避光
PI Stain(1mg/ml)			
说明书	一份		

自备材料:

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

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。

③4℃ 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。

⑤4℃ 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:

①4℃ 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。

④4℃ 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:

①4℃, 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。

④4℃ 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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，但这种情况并不是绝对的，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： -20℃ 保存, 6 个月有效； 4℃ 保存, 1 个月有效。

