

DNA 含量检测试剂盒(细胞周期)

DNA Content Quantitation Assay(Cell Cycle)

货号:AC10876

规格:20T/50T

保存:-20℃避光保存,一年有效。

产品说明:

细胞周期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。细胞周期又可以分为间期和有丝分裂期,细胞间期常划分为休眠期(G_0),DNA 合成前期(G_1),DNA 合成期(S),DNA 合成后期(G_2),整个周期可表示为 $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M$ 。DNA 周期检测可用来反应细胞周期的各个期的状况,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。

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,细胞对前向角光散射的能力显著降低,对 90°角光散射的能力增加或没有变化。在细胞凋亡的晚期,前向角和 90°角光散射的信号均降低。因此可以通过流式细胞仪测定细胞光散射的变化来观察凋亡细胞。用 PI 对细胞进行染色,凋亡细胞由于总 DNA 量降低,于正常 G_0/G_1 细胞群前出现 DNA 低染细胞群,即 G_1 峰前出现亚二倍体峰(sub- G_1),即细胞凋亡群。

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。

试剂盒组成:

试剂名称	AC10876-20T	AC10876-50T	保存条件
RNase A	2.0mL	5.0mL	20°C
PI 染色液	8.0mL	20.0mL	-20℃避光

使用方法:(仅供参考)

- 1, 用适当的方法诱导细胞凋亡,同时设立阴性对照组,并收集细胞。
- 2, 用 PBS 洗涤细胞一次, 1500rpm, 5min 离心收集, 调整细胞浓度为 1×10⁶/ml,取 1ml 单细胞悬液。
- 3,制备的单细胞悬液离心后,去除上清,在细胞中加入 70%预冷乙醇 500ul 固定 2 小时至过夜,4℃保存,染色前用 PBS 洗去固定液;如需要,细胞悬液可用 200 目细胞筛网过滤一次。
- 4, 细胞沉淀中加 100μl RNase A 溶液, 重悬细胞, 37℃水浴 30min。
- 5, 再加入 400 μl PI 染色液混匀, 4℃避光孵育 30 min。
- 6, 上机检测,记录激发波长 488nm 处红色荧光。

注意事项:

碘化丙啶(PI)染色液保存和使用过程中应注意避光。

PI 有毒,操作时应戴手套,并避免污染。

荧光染料都存在淬灭问题,建议染色后尽量当天完成检测。