

产品组成:

规格	200-400assays
PI 染色液	1ml
试剂 B	10ml

储存条件:

2-8℃避光保存。长期保存-20℃避光保存。

有效期: 一年。

产品简介:

PI 检测试剂盒可用于细胞凋亡检测, 也可用于普通的细胞核染色以及某些特定情况下的双链 DNA 染色, 染色后可用荧光显微镜检测或流式细胞仪检测。Propidium Iodide 是一种 DNA 结合性染料, 其激发和发射波长分别为 488nm 和 630nm, 产生红色荧光, 但无膜通透性, 不能透过活细胞膜, 只能染死细胞。因此, 在荧光显微镜下观察, 正常细胞不能着色, 早期凋亡细胞呈微弱红光, 晚期凋亡细胞红光加强, 坏死细胞呈强红色荧光。也可采用流式细胞仪利用细胞形态上的改变影响它们的光散射特性改变进行分析, 还可与 RNase A 结合进行细胞周期分析。

使用方法:

使用注意事项:

- 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖内壁上的液体收集至管底, 避免开盖时液
- 流式检测细胞凋亡时, 其 DNA 可染性降低被认为是凋亡细胞的标志之一, 但这种 DNA 可染性降低也可能是因为 DNA 含量的降低, 或者是因为 DNA 结构的改变使其与染料结合的能力发生改变所致。在分析结果时应该注意。
- 本染色液可用于石蜡切片、冰冻切片、细胞涂片、细胞的检测。石蜡切片用常规方法脱蜡、分化、冰冻切片用冰丙酮固定后检测。

使用方法:

本染色试剂盒用于细胞染色分析, 也可用于石蜡切片、冰冻切片、细胞涂片的检测。石蜡切片用常规方法脱蜡、分化、冰冻切片用冰丙酮固定后检测。以下以培养细胞的荧光显微镜检测为例, 细胞染色可用预冷的 70% 的乙醇固定, 4℃, 1—2 小时, 也可不固定, 其他方法请参阅相关资料。

染色缓冲液的配制: 根据样品数按下列比例配制染色缓冲液。取 100 μL 试剂 B 加 900 μL 无菌去离子水稀释, 混匀即成染色缓冲液。

荧光显微镜观察

- 1、收集细胞, PBS 洗涤细胞一次, 2000rpm 离心 5 分钟, 用染色缓冲液重悬细胞, 调整细胞浓度约为 10^6 个/ml;
- 2、取 100ul 细胞悬液, 加入 2-5ul PI 染液, 轻轻混匀;
- 3、4℃避光放置 5 min 后, 滴加于载玻片上, 加盖玻片;
- 4、荧光显微镜检测。

流式检测:

- 1、收集细胞, PBS 洗涤细胞一次, 2000rpm 离心 5 分钟, 用染色缓冲液重悬细胞, 调整细胞浓度约为 10^6 个/ml;
- 2、500ul 细胞悬液中加入 5ul PI 染液;

- 3、4℃避光放置 30 min;
- 4、流式细胞仪检测。

结果分析：

置于荧光显微镜下用 488nm 激发光观察结果：正常细胞不能着色，早期凋亡细胞呈微弱红光，晚期凋亡细胞红光加强，坏死细胞呈强红色荧光。

流式检测用氩离子激发荧光，激光光波波长为 488nm，发射光波波长大于 630nm，产生红色荧光分析 PI 荧光强度的直方图也可分析前散射光对侧散射光的散点图。在前散射光对侧散射光的散点图或地形图上，凋亡细胞与正常细胞相比，前散射光降低，而侧散射光可高可低，与细胞的类型有关；在分析 PI 荧光的直方图时，先用门技术排除成双或聚集的细胞以及发微弱荧光的细胞碎片，在 PI 荧光的直方图上，凋亡细胞在 G1/G0 期前出现一亚二倍体峰。如以 G1/G0 期所在位置的荧光强度为 1.0，则一个典型的凋亡细胞样本其亚二倍体峰的荧光强度为 0.45，可用鸡和鲑鱼的红细胞的 PI 荧光强度做参照标准，两者分别为 0.35 和 0.7，可以确保在两者之间的不是细胞碎片而是完整的细胞。