

本产品仅用于科研, 不可用于诊断

Cell Cycle Assay Kit

细胞周期检测试剂盒

RG100-107-50

规格: 50T

一、概述

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 (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。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。通过细胞DNA含量的测定, 可计算各细胞周期的百分率, 也可通过DNA片段化检测、DNA双染标记等方法检测细胞凋亡。

Cell Cycle Assay Kit试剂盒, 可快速完成细胞周期的分析, 操作简便。本产品使用碘化丙啶 (PI) 作为DNA荧光染料, 碘化丙啶和双链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。通过流式细胞术得到细胞周期中G₀/G₁, G₂和S期细胞的比例。

二、试剂盒组分

试剂盒组分	50 T
Assay buffer	50 ml
Permeabilization solution	500 ul

三、储存条件

2~8°C避光保存, 有效期一年。

四、使用方法

方法1: 无需固定细胞的快速检测方法

- 收集细胞样品: 将细胞密度调整为 $1-5 \times 10^6$ cells/ml。
 - 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。1000×g左右离心3-5 min, 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。
 - 对于悬浮细胞: 1000×g左右离心3-5 min, 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。
- 加入约1 ml冰浴预冷的PBS, 重悬细胞, 取1 ml的细胞悬液加入到1.5 ml微量管中, 在1000×g离心3-5 min, 弃上清。
- 加入1 ml Assay buffer和10 μl Permeabilization solution。
- 涡旋振荡5-10 s混匀。室温避光孵育30 min, 立刻进行流式检测。

如需在荧光显微镜下观察, 则离心细胞, 弃上清, 加入新鲜缓冲液重悬。滴加1滴细胞悬液至载玻片, 盖上盖玻片后使用合适的滤光片进行观察。

方法2: 需固定细胞

- 收集细胞样品: 将细胞密度调整为 $1-5 \times 10^6$ cells/ml。

- a. 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。1000×g左右离心3-5 min，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。
 - b. 对于悬浮细胞：1000g×左右离心3-5 min，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。
2. 加入约1 ml冰浴预冷的PBS，重悬细胞，取1 ml的细胞悬液加入到1.5 ml微量管中，在1000×g离心3-5 min。
 3. 弃上清，并在细胞团中加入1 ml的冰浴预冷的70%乙醇。
 4. 涡旋振荡使细胞分散，4℃固定2 h，固定12-24小时可能效果更好。
 5. 1000×g离心3-5 min后，去除乙醇。
 6. 加入1 ml PBS缓冲液清洗细胞，在1000×g离心3 min。
 7. 弃上清液后加入1 ml Assay buffer和10 μl Permeabilization solution。
 8. 涡旋振荡使细胞分散，37℃避光孵育30 min。随后可以4℃或冰浴避光存放。建议染色完24小时内进行流式检测，最好能在当日完成流式检测。

五、注意事项

1. 本试剂只适用于实验，不适用于临床检测。
2. 碘化丙啶（PI）有毒性，能通过皮肤吸收，对眼睛有刺激作用，使用时需戴手套。
3. 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。