

产品说明书

产品名称: Cell Cycle Assay Kit Plus (细胞周期检测试剂盒升级版)

产品货号: BN16078

产品规格: 50T

产品内容:

组分	50T
A. 染色缓冲液 (10×)	10 mL
B. RedNucleus I 染色液	200 μ L

贮存条件

4°C 保存, 保质期一年。长期储存请于 -20°C 保存。

RedNucleus I 染色液需避光保存。

产品介绍

细胞周期检测试剂盒升级版 (Cell Cycle Assay Kit Plus)

采用 RedNucleus I 染色法检测细胞周期, RedNucleus I 是一种远红外核酸染料, 具有细胞膜透性, 可快速进入活细胞, 特异结合 DNA, 对活细胞进行周期检测, 且无需 RNase 的消化。与传统的碘化丙啶染色 (PI staining) 方法相比, 细胞无需破膜或固定, 操作更加简便。

RedNucleus I 是一种双链 DNA 的荧光染料, 与双链 DNA 结合后的荧光强度和双链 DNA 的含量成正比。可通过流式细胞仪测定细胞内 DNA 含量, 然后根据 DNA 含量的分布情况, 进行细胞周期分析。RedNucleus I 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。此外, RedNucleus I 与 Horizon BV / BUV、FITC 和 R-PE 等染料兼容, 可在样品染色后进行周期检测。

本试剂盒通常应用于培养的贴壁或悬浮细胞的细胞周期检测, 如果用于组织的细胞周期检测, 则必须先把组织消化成单细胞状态。

使用方法

实验材料

- 细胞株或其他细胞样品 (自备)
- Cell Cycle Assay Kit Plus
- 胰酶 (自备)
- 含 FBS 的细胞培养基 (自备)

实验步骤

1. 细胞样品的准备:

1) (此步骤是针对贴壁细胞, 若为悬浮细胞, 可直接进行第 2 步) 用胰酶消化细胞, 加入细胞培养液, 轻轻吹散细胞后, 收集到离心管内。

2) 1000 g 左右离心 3-5 min, 沉淀细胞。小心吸除上清, 加入约 1 mL 冰浴预冷的 1× 的染色缓冲液 (将 10× 的染色缓冲液用 diH₂O 按 1: 10 稀释), 重悬细胞。重复一次。

3) 1000 g 左右离心 3-5 min, 沉淀细胞。弃上清后, 加入 1 mL 培养基重悬细胞 (对于固定细胞, 也可用 1× PBS 重悬)。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞, 避免细胞成团。

2. 染色: 每管细胞样品中加入 4 μ L 的 RedNucleus I 染色液, 缓慢并充分混匀, 室温避光孵育 20 min (或在 37 °C 避光孵育 5-10 min)。

3. 流式检测和分析: 用流式细胞仪在 638 nm 处激发, 推荐在 RL3 或 FL4 通道检测, 也可使用 RL1、RL2 通道检测。采用适当分析软件进行细胞 DNA 含量分析和光散射分析。

注意事项：

1. 本产品适用于活细胞和固定细胞周期检测。如需固定，推荐使用冰浴预冷 75-80% 的乙醇过夜固定细胞。
2. 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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。