



细胞周期检测试剂盒说明书（简化版）

（G019-1 DNA 含量检测）

一、产品简介

细胞周期（cell cycle）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（Interphase）和有丝分裂期（Mphase），细胞间期又常划分为休眠期（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。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。因此可通过流式细胞仪测定细胞光散射的变化观察凋亡细胞。用 PI 对细胞进行染色，凋亡细胞由于总 DNA 量降低，于正常 G₀/G₁ 细胞群前出现一 DNA 低染细胞群，即 G₁ 峰前出现亚二倍体峰（sub-G₁），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。

二、试剂盒组份

组分	20T 规格	50T 规格	100T 规格	储存条件
RNase A 溶液	2.0mL	5.0 mL	10.0 mL	-20℃
碘化丙啶（PI）	8.0mL×1 瓶	20.0mL×1 瓶	20.0mL×2 瓶	4℃避光

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

低温高速离心机、微量移液器、1.5mL 离心管、流式细胞仪、PBS、-20℃无水乙醇

四、保存条件：

-20℃保存，碘化丙啶（PI）4℃，需避光保存。



五、操作规程

1、准备工作：

- a、无水乙醇放置-20℃冰箱过夜。
- b、RNase A溶液溶解后混匀并置于冰浴上备用。

2、样品的处理

a、对于悬浮细胞

按照常规的方法离心（2000rpm，5min）收集细胞 5×10^5 ，小心吸除上清，同时确保尽量没有细胞被吸除，PBS洗涤一次，同前吸尽上清后。加入0.3ml PBS重新悬浮细胞，下转第3步进行实验。

b、对于贴壁细胞

按常规的方法用胰酶消化贴壁细胞，并收集细胞 5×10^5 。用PBS洗涤一次，吸尽上清后。加入0.3ml PBS重新悬浮细胞，下转第3步进行实验。

- 3、把第2步制备好的单细胞悬液全部缓慢转移至1.2ml -20℃无水乙醇中，并涡旋激烈震荡后放置-20℃冰箱中1h，或过夜。
- 4、离心（2000rpm，5min），吸尽上清后，加入1.0ml PBS重新悬浮细胞，室温放置15min。
- 5、离心（2000rpm，5min），吸尽上清后，加100 μ L RNase A 并充分悬浮细胞，然后于37℃水浴30min；
- 6、再加入400 μ L PI并充分混匀，4℃避光30min；
- 7、上机检测，记录激发波长488nm 处红色荧光。