



## PI 染色试剂盒

| 产品编号     | 产品名称     | 规格   |
|----------|----------|------|
| RG-JC-05 | PI 染色试剂盒 | 100T |

### 产品简介

PI 染色试剂盒，也称为死细胞红色荧光染色试剂盒(PI)，是一种快速、高效、便捷的基于碘化丙啶特异性地对死细胞核进行染色的试剂盒。本试剂盒搭配核糖核酸酶(RNase)还可用于细胞周期分析。

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种常用的细胞核荧光染料，作为一种溴化乙锭 (EB) 的类似物，能够嵌入碱基 对之间实现与双链 DNA 结合。PI 经 488 nm 荧光激发，产生相对较大的斯托克司频移后，并在 617 nm 处具有最大发射波长。 另外，PI 不能穿透细胞膜而被排斥在活细胞外，但是可以穿过破损的细胞膜而对核染色。利用以上特性，PI 可作为细胞活力分析的荧光探针之一。不仅可单独使用；也可以同 Calcein-AM、Hoechst 33258 或 Hoechst 33342 等活细胞荧光探针一起使用，同时对活细胞和死细胞染色和鉴定。也能够与 488 nm 激发的荧光素如 FITC 和 PE 等联合使用。

除用于坏死细胞的染色外，本试剂盒还可以用于细胞周期分析。由于 PI 结合 DNA 的同时也可以结合 RNA，所以需要使用核糖核酸酶 (RNase)先充分降解 RNA，使 PI 仅对细胞核中的 DNA 染色，从而用于细胞核的染色或使用流式细胞仪对细胞进行 DNA 含量测定，然后根据 DNA 含量的分布情况，进行细胞周期分析。

本试剂盒内提供的 PI 纯度高，溶解在超纯水中，浓度为 1mg/mL(1.5mM)。PI 的常用终浓度为 1-50  $\mu\text{g/mL}$ ，通常 10 $\mu\text{g/mL}$  染色孵育 时间为 5-30 分钟即可得到较好的效果。为得到比较理想的结果，请根据细胞类型和实验实际情况对 PI 的最终浓度、染色时间进行 适当调整。本试剂盒中提供的 Assay Buffer 可在一段时间内维持细胞的正常状态，并给细胞提供一定的营养。

按 PI 最终工作浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$  计算,本试剂盒每毫升 PI (1mg/mL)可以配制 100mL 的染色工作液，以 96 孔板为例，每孔检测体系的 体积为 100 $\mu\text{L}$  时可以检测 1000 次；如果用于流式细胞仪检测，体系体积为 0.5mL 时可以检测 200 次；对于 6 孔板中的贴壁培养细胞样品，检测体系体积为 1mL 时可以检测 100 次。

### 产品组成

| 组分        | 名称           | 规格     |
|-----------|--------------|--------|
| RG-JC-05a | PI (1mg/mL)  | 1 mL   |
| RG-JC-05b | Assay Buffer | 100 mL |

### 使用方法

#### 1. PI 染色工作液的配制。

本产品仅供科研使用



6 孔板每孔所需 PI 染色工作液的量为 1mL，其它培养器皿的 PI 染色工作液的用量以此类推；对于细胞悬液每 50-100 万细胞需 0.5mL PI 染色工作液。取适量 PI (1mg/mL)，按照每 10 $\mu$ L PI (1mg/mL)加入 990 $\mu$ L Assay Buffer 的比例稀释 PI (1mg/mL)，混匀后即为 10  $\mu$ g/mL PI 染色工作液。

注 1：配制 PI 染色工作液时注意避光，且须现配现用，稀释后不能长期保存。

注 2：PI 染色工作液中 PI 的最终浓度需根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。

注 3：本试剂盒中提供的 Assay Buffer 可在一段时间内维持细胞的正常状态，并给细胞提供一定的营养。

注 4：如果用于坏死细胞的细胞核染色，可直接使用 PI 染色工作液进行染色；如果用于非坏死细胞的细胞核染色，则需要固定、通透并使用 RNase A 处理后再进行染色；如果用于细胞周期分析，则需要固定并使用 RNase A 处理后再进行染色。

## 2. 坏死细胞的染色。

### a.对于悬浮细胞。

- (1) 细胞按照实验设计进行一定处理后，取约 10-100 万细胞 600 $\times$ g 室温离心 5 分钟，弃上清，加入适当体积的 PI 染色工作液重悬细胞，使细胞密度为 100-1000 万/mL。
- (2) 细胞培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 15-30 分钟，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 20 分钟作为初始孵育时间，根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- (3) 37 $^{\circ}$ C 孵育结束后，600 $\times$ g 4 $^{\circ}$ C 离心 3-4 分钟，沉淀细胞。弃上清，注意尽量不要吸除细胞。
- (4) 用无血清培养液或 HBSS 洗涤 2 次：加入 1mL 无血清培养液重悬细胞，600 $\times$ g 4 $^{\circ}$ C 离心 3-4 分钟，弃上清。再加入 1mL 无血清培养液或 HBSS 重悬细胞，600 $\times$ g 4 $^{\circ}$ C 离心 3-4 分钟，弃上清。
- (5) 再用适量无血清培养液或 HBSS 重悬细胞后，用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察，也可以用荧光分光光度计检测或流式细胞仪分析。PI 与 DNA 形成的复合物最大激发光波长为 535nm，最大发射光波长为 617nm。

### b.对于贴壁细胞。

注：对于贴壁细胞，若采用流式细胞仪检测，可以先消化并收集细胞，重悬后参考悬浮细胞的检测方法。

- (1) 对于 6 孔板的一个孔，吸除培养液，根据具体实验如有必要可以用 PBS 或其它适当溶液洗涤细胞一次。如果使用其它的多孔板，各种试剂的用量需要相应按比例调整。
- (2) 加入 1mL PI 染色工作液。细胞培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 15-30 分钟，不同的细胞最佳孵育时间不同。以 20 分钟作为初始孵育时间，根据作用细胞对孵育时间进行适当优化以得到最佳的效果。
- (3) 37 $^{\circ}$ C 孵育结束后，吸除上清，用无血清培养液或 HBSS 洗涤 2 次。
- (4) 加入 2mL 无血清培养液或 HBSS，荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。如果考虑使用荧光酶标仪

本产品仅供科研使用



检测，推荐使用全黑 96 孔细胞培养板或黑色透明底 96 孔细胞培养板，分别进行顶读或底读模式进行荧光检测。PI 与 DNA 形成的复合物最大激发波长为 535nm，最大发射光波长为 617nm。

## 注意事项

1. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

## 有效期

-20°C 保存，一年有效；4°C 保存，半年有效。其中 PI (1mg/mL)须避光保存。