细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒（红色荧光）

货号: KTA2020　　规格：50 T/100 T　　批号：见产品标签

	适用样本：细胞
	荧光激发/发射：PI: Ex/Em=535 nm/617 nm
	保质期：-20℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

细胞周期可以分为间期（interphase）和有丝分裂期(M phase)。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）。细胞进入细胞周期，G1 期细胞具有一组成对的染色体，DNA 含量是一致的，当细胞进入 S 期时 DNA 开始复制，DNA 含量介于 G1 期的 1 到 2 倍，而在复制完成后的 G2/M 期的细胞 DNA 含量则为 G1 期的 2 倍。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。

细胞经 Propidium Iodide (PI) 染色后，假设 G0/G1 期细胞荧光强度为 1，则含有双份 DNA 的 G2/M 期细胞的荧光强度理论值为 2，而处于 DNA 复制的 S 期细胞的荧光强度为 1~2 之间。晚期凋亡或坏死细胞由于细胞核皱缩，DNA 片段化导致部分基因组 DNA 丢失，所以荧光强度小于 1，流式分析中会出现 sub-G1 峰，即凋亡峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	50 T	100 T	
PI (50×)	0.5 mL	1 mL	-20℃，避光保存
Assay Buffer (10×)	2.5 mL	5 mL	4℃
RNase A (100×)	0.25 mL	0.5 mL	-20℃

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	流式细胞仪	流式推荐 PE 通道
耗材	细胞培养板	/
试剂	磷酸盐缓冲液（PBS，pH7.4）、去离子水、70%乙醇	/
其他	离心机、可调节式移液枪及枪头	/

04 注意事项

- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
PI (50×)	即用型；使用前，平衡到室温。	未用完的试剂分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。
1×Assay Buffer	即用型；用去离子水将 10×Assay Buffer 稀释成 1×Assay Buffer。	使用前置于冰上预冷。
Staining Solution:	即用型；在 10 mL 1×Assay Buffer 中加入 100 μL RNase A 溶液和 200 μL PI (50×)，充分混合并避光放置。	未用完的试剂 4℃可保存 1 周。

05-2 实验步骤

注意：PI 的最佳浓度和孵育时间取决于具体应用。染色条件可能需要根据特定的细胞类型进行修改。

1. 用所需方法处理细胞；

2. 样本处理：

(1) 悬浮细胞：4℃，600 g 离心 5 min 收集 1-2×10^6 个细胞。

(2) 贴壁细胞：使用胰蛋白酶消化细胞，4℃，600 g 离心 5 min 收集 1-2×10^6 个细胞。

3. 用预冷的 PBS 洗涤细胞沉淀两次；

4. 将细胞 4℃，600 g 离心 5 min，除去上清，然后将细胞管转移至冰上；

5. 用预冷的 70%乙醇缓慢重悬细胞，将细胞在-20℃下放置 2 h 或更长时间（建议过夜固定 12-24 h）；进行染色和分析之前，这些细胞可以在-20℃下保存数周；

注意：将细胞固定在单个细胞悬液中非常重要。在固定过程中，细胞可能会聚集。缓慢滴加初始体积的 70%乙醇，同时轻轻涡旋有助于防止细胞聚集；

6. 4℃，1000 g 离心 5 min；

7. 除去乙醇，并将细胞重悬于 1 mL 冰冷的 PBS 中；

8. 4℃，500 g 离心细胞 10 min，然后除去 PBS。重复步骤 7 和 8 两次以彻底除去乙醇；

9. 将细胞重悬于 0.5 mL Staining Solution 中，37℃避光孵育 30 min;

10. 用 PBS 洗涤细胞两次，并用预冷的 PBS 重悬。使用合适的 PE 通道（Ex/Em=535 nm/617 nm），通过流式细胞仪在 24 h 内分析细胞。

05 结果示例

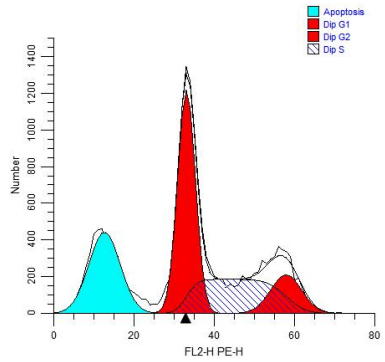


Figure 1.Hela 细胞经凋亡诱导剂处理后，经细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒（红色荧光）进行染色，用 Beckman Coulter CytoFLEX 检测（PE 通道），然后周期拟合分析。

06 FAQ

1． 染色完成后必须使用 PBS 清洗后再进行流式检测吗？

可以不洗涤直接上机检测。

2． 固定可以用 4%多聚甲醛吗？固定是什么作用？

不建议使用 4%多聚甲醛，建议使用 70%的乙醇；固定细胞的目的在于把组织和细胞的原有结构尽可能完整地保存下来，避免组织和细胞发生降解、自溶、腐败、和变形等，使细胞和组织内的各种酶失去活性，防止细胞和组织的各种分子变性、解离，使细胞的化学物质和酶能精准定位，并在以后的处理和制片过程中亦不发生改变和破坏。同时，固定还可使细胞的各部分易于着色，适于观察、长期保存和分析。

3． 细胞周期的实验样本能在-20℃保存多久呢？

理论上来说，固定后置于-20℃冰箱放置两到三天，对结果影响不大。

07 相关产品

货号	试剂盒名称
KTA1001	活/死细胞双染色试剂盒
KTA1002	活细胞示踪试剂盒（绿色荧光）

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒（红色荧光）

（Abbkine 货号 ：KTA2020）



用所需方法处理细胞



4℃，600 g离心5 min；收集细胞
用预冷的PBS洗涤
再次离心，去上清，将细胞管转移至冰上



预冷的70%乙醇缓慢重悬细胞



细胞在-20℃下放置2 h
或
过夜固定12-24 h



①.4℃，1000 g离心5 min，除去乙醇
使用1 mL预冷PBS重悬细胞；
②.4℃，500 g离心细胞10 min，除去PBS
重复①、②步骤

样本处理

试剂准备

工作液配置（Staining Solution）：

1×Assay Buffer	10 mL
RNase A溶液	100 μL
PI (50×)	200 μL



加入0.5 mL工作液，37℃避光
孵育30 min



PBS洗涤细胞2次

预冷PBS重悬



流式细胞仪分析
(PE)

V1.0