

## 即用型 PI 染色液 使用说明书

产品编号: SL7090/SL70901

规格: 10mL/50mL

保存条件: -20 度保存, 有效期 1 年。

产品内容:

产品内容	产品货号规格	产品货号规格
即用型 PI 染色液 (50ug/mL)	SL7090-10mL	SL7090-50mL
即用型 PI 染色液 (50ug/mL, 含 RNase)	SL70901-10mL	SL70901-50mL
说明书	1 份	

产品简介:

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, 能够嵌入碱基之间实现与 DNA 结合。这种结合没有或者几乎无序列倾向性, 大约每 4-5 个 DNA 碱基对结合一个染料。PI 也能与 RNA 结合, 需要用核酸酶处理来区分 DNA 和 RNA 染色。水溶液中 PI 的最大激发/发射波长是 493/636nm。一旦与核酸结合, 荧光信号明显增强 20-30 倍, 最大激发波长向红色波段迁移 ~30-40nm, 最大发射波长向蓝色波段迁移 ~15nm, 从而使其最大激发/发射波长变为 535/617nm。PI 的摩尔吸光系数相对较低, 但是其具有足够大的斯托克司频移来同时检测核酸 DNA 和荧光标记抗体, 只需要使恰当的滤片。PI 适用于荧光显微镜, 共聚焦显微镜, 流式细胞仪以及荧光计分析。

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。利用这一特性, 通常与 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, 用于细胞凋亡相关的研究。也可以用作多重荧光染色的复染剂, 兼容于各种细胞标记技术, 包括直接或者间接的荧光抗体检测, mRNA 原位杂交, 细胞结构特异性的荧光探针检测法以及组织染色。PI 的单独染色也可以进行细胞周期的检测。

使用说明 (仅供参考):

### 染色方法一：

1. 用适当方法收集细胞并在 PBS 中洗涤。
2. 在预冷的 70% 乙醇中固定。在涡旋搅拌的同时向细胞沉淀中逐滴加入乙醇。这样可确保所有细胞都能固定，最大限度避免细胞聚集。
3. 在 4 °C 下固定 30 min。
4. 用 PBS 洗涤 2 次。以 850 g 的速度在离心机中离心，弃去上清液时（尤其是离心去除乙醇时）应小心操作避免损失细胞。
5. 用核糖核酸酶处理细胞。加入 50  $\mu$ L RNase 存储液 (100  $\mu$ g/mL)。这可确保仅染色 DNA，而不会染色 RNA。
6. 加入 200  $\mu$ L 即用型 PI 染色液 (50ug/mL)。

### 结果分析

1. 测量前向散射 (FS) 和侧向散射 (SS)，以识别单个细胞。
2. 脉冲处理可排除分析中的粘合细胞。根据流式细胞仪类型不同，可分别根据脉冲面积与脉冲宽度的关系或者脉冲面积与脉冲高度的关系进行判断。
3. PI 的最大发射波长为 605 nm，因此可用合适的带通滤波器进行测量。

### 染色方法二：

1. 样本准备：使用合适的方法或者以下方法固定细胞：
  - 1.1 收集  $2 \times 10^5$  -  $1 \times 10^6$  个细胞，离心弃上清。轻弹管壁，使沉淀重悬在残余的液体中，加入 1 ml 室温下的 PBS。
  - 1.2 将细胞缓慢加入至 3 ml -20°C 的无水乙醇中，边加边高速搅拌。固定 5 - 15 分钟。
  - 1.3 离心细胞，弃去乙醇，轻弹管底使沉淀松散，加入 2 - 5 ml 室温下的 PBS 放置 15 分钟使细胞再次水化。
2. 复染：
  - 2.1 用 PBS 稀释 PI 染色液到所需浓度。为避免 RNA 的干扰，可在染色液中加入终浓度为 20 ug/ml 的 RNA 酶。
  - 2.2 样本制备的最后一步后离心收集细胞，去除上清，用手指轻弹管壁以弹松细胞后，加入 1 ml 的 PI 染色工作液。室温孵育 15 分钟后，流式细胞仪进行细胞分析。若用流式显微镜观察，则需要离心样本，去除上清并重悬细胞在新鲜的缓冲液中。吸取 1 滴悬液到载玻片上，盖上盖玻片后观察。