

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01081

产品介绍

高效型 RedNucleus I 细胞周期检测试剂盒（远红外）采用 RedNucleus I 染色法对检测活细胞及固定细胞的细胞周期。RedNucleus I 是一种远红外 dsDNA 的荧光染料，具有细胞膜透性，可快速进入活细胞和固定细胞特异性结合 dsDNA，且无需 RNase 的消化，结合后的荧光强度和 dsDNA 的含量成正比。后通过流式细胞仪测定细胞内 DNA 含量，然后根据 dsDNA 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 dsDNA 的 G2/M 期细胞的荧光强度的理论值为 2，正在进行 dsDNA 复制的 S 期细胞的荧光强度为 1~2 之间。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。

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。

应用范围

细胞周期检测

储运条件

4℃ 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

简便快捷：细胞无需破膜或固定，操作更加简便；

特异性好：特异性结合 dsDNA，无需 RNase 消化。

注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 2.针对不同类型的细胞，需要进行测试后开展正式。如需固定，推荐使用冰浴预冷 75~80% 的乙醇 -20℃ 过夜固定细胞。
- 3.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。
- 4.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

离心管

2.试剂

(1) 细胞株或其他细胞样品 (2) 75~80% 乙醇：使用无水乙醇及超纯水配制，提前备好并于 -20℃（可选）(3) PBS (4) 胰酶 (5) 含 FBS 的细胞培养基

3.仪器

流式细胞仪

操作步骤

1. 细胞样品的准备

(1) 贴壁细胞：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。

注：上机细胞需达到 50,000 个及以上，因此初始收集的细胞数需要足够量。

(2) 悬浮细胞：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 $1\times$ 的染色缓冲液（将 $10\times$ 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 $1\times$ 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

(1) 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

(2) 室温避光孵育 20 min（或在 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 5~10 min）。不同的细胞最佳孵育时间有所不同，后续可以根据实际染色效果对染色时间进行适当调整和优化，以得到更加理想的染色效果。

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。

4. 结果示例图（图 1）

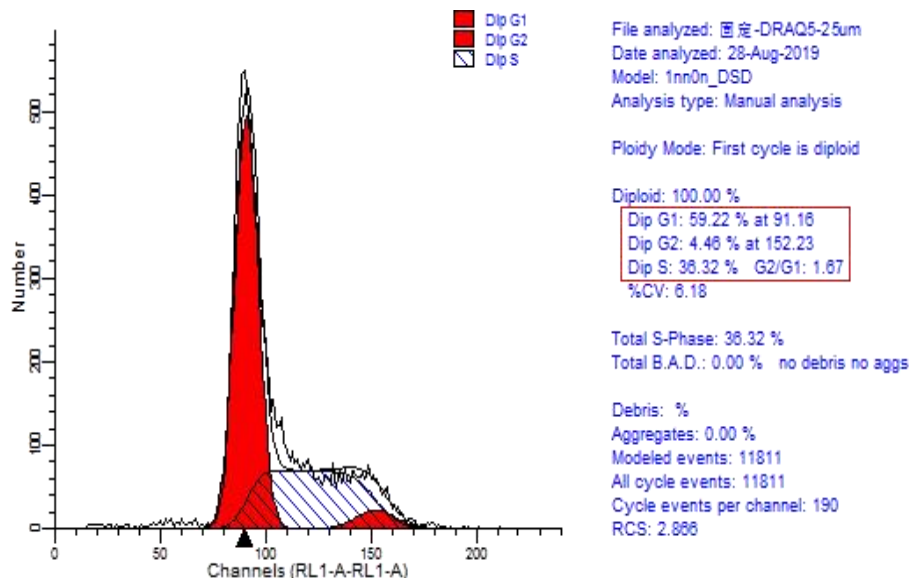


图 1 PR01081 流式结果分析图