

Cell Cycle Assay Kit Plus (细胞周期检测试剂盒升级版)

产品介绍

Cell Cycle Assay Kit Plus (细胞周期检测试剂盒升级版) 用于活细胞及固定细胞周期检测具有一定的适用性，目前经过本公司验证过的细胞类型有 HeLa、Molt-4、Jurkat、K562，对于 HeLa 及 Molt-4，活细胞及 75%冰乙醇-20℃过夜固定后均可以检测，但另外两种 Jurkat、K562，活细胞状态及固定状态均不能检测。故针对不同类型的细胞，是否适用，需要测试后确定。

Cell Cycle Assay Kit Plus (细胞周期检测试剂盒升级版) 采用 RedNucleus I 染色法检测细胞周期，RedNucleus I 是一种远红外核酸染料，具有细胞膜透性，可快速进入活细胞，特异结合 DNA，对活细胞进行周期检测，且无需 RNase 的消化。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。

RedNucleus I 是一种双链 DNA 的荧光染料，与双链 DNA 结合后的荧光强度和双链 DNA 的含量成正比。可通过流式细胞仪测定细胞内 DNA 含量，然后根据 DNA 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 DNA 的 G₂/M 期细胞的荧光强度的理论值为 2，正在进行 DNA 复制的 S 期细胞的荧光强度为 1-2 之间。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

产品货号

C6078

储运条件

4℃保存，有效期见外包装。长期储存请于-20℃保存。RedNucleus I 染色液需避光保存。

产品特点

操作方便：细胞无需破膜或固定；

产品组分

组分	6078 (50T)
A. 染色缓冲液 (10×)	10 mL
B. 染色缓冲液 (10×)	200 μL

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 本产品适用于活细胞和固定细胞周期检测具有一定的局限性，针对不同类型的细胞，是否适用，需要测试后确定。如需固定，推荐使用冰浴预冷 75-80%的乙醇-20℃过夜固定细胞。
- 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。

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 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。

自备材料

- 耗材
离心管
- 试剂
(1)胰酶 (2)含 FBS 的细胞培养基
- 仪器
流式细胞仪

操作步骤

- 细胞样品的准备：
 - (1) (此步骤是针对贴壁细胞，若为悬浮细胞，可直接进行第 (2) 步) 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) 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×的染色缓冲液 (将 10×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×PBS 重悬)。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。
- 染色：每管细胞样品中加入 4 μL 的 RedNucleus I 染色液，缓慢并充分混匀，室温避光孵育 20 min (或在 37℃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。
- 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。