

# 产品说明书

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

产品货号: C6078

产品规格: 50T

产品内容:

组分	规格	C6078 (50T)
A. 染色缓冲液 (10×)		10 mL
B. RedNucleus I 染色液		200 μL

## 储存条件

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

## 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°C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 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞的荧光强度为 1, 那么含有双份基因组 DNA 的 G<sub>2</sub>/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。

## 使用方法

### 实验材料

- 细胞株或其他细胞样品 (自备)
- 本试剂盒
- 胰酶 (自备)



- 含 FBS 的细胞培养基（自备）

### 实验步骤

#### 1. 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 diH<sub>2</sub>O 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。

2. 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°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。

### 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. 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°C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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

