



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## 碘化丙啶染色液（Propidium Iodide Staining Solution）

### ● 产品组成:

组分货号	名称	规格	贮存
PE1080S	碘化丙啶染色溶液	1 ml	-20℃
	说明书	一份	

### ● 产品简介:

碘化丙啶(propidium iodide, PI), 分子式  $C_{27}H_{34}I_2N_4$ , MW 668.39, CAS: 25535-16-4。碘化丙啶不能穿过完整的活细胞膜, 即正常细胞和凋亡细胞在不固定的情况下对 PI 拒染, 而坏死细胞由于失去膜的完整性, PI 可进入细胞内与 DNA 结合, 根据此特点, 使用 PI 染色可鉴别死细胞。如果使用 PI 对活细胞染色必须在染色前进行固定, 以增加细胞膜对染料的通透性。PI 经常被用来与 Calcein-AM 或者 FDA 等荧光探针一起使用, 能同时对活细胞和死细胞染色。PI-DNA 复合物的激发和发射波长分别为 535 nm 和 615 nm。常用于流式细胞仪分析和显微镜观察, 检测细胞凋亡(apoptosis)或细胞坏死(necrosis)。

本产品为 PI 水溶液, 浓度为 1 mg/ml (1.5 mM)。使用时根据实验不同直接将本产品用相应溶液稀释到工作浓度。

### ● 贮存:

-20℃ 保存, 一年有效。

### ● 操作步骤:

#### 一 悬浮细胞染色

- 1.1 500 g (2400 rpm, 下同) 离心收集细胞样品于 1.5 ml 离心管内, 加入 0.5 ml 固定液 (货号: KA5010, 卡诺固定液), 缓缓悬起细胞, 常温固定 10 分钟或更长时间(可 4℃ 过夜)。
- 1.2 离心去尽固定液, 用 PBS 洗两遍, 每次 3 分钟, 洗涤期间手动晃动数次。
- 1.3 细胞沉淀中加入 200 $\mu$ l 1 $\times$ PBS 重悬, 加入 20  $\mu$ l 碘化丙啶染色液, 37℃ 避光染色 10-15 分钟, 手动晃动数次。
- 1.4 离心收集沉淀, 重悬于 100  $\mu$ l 1 $\times$ PBS 中。
- 1.5 取 5  $\mu$ l 抗荧光淬灭封片液 (货号: AM0510) 于载玻片上, 加入等体积步骤 1.4 染色后细胞重悬液, 盖上一洁净的盖玻片, 尽量避免气泡。
- 1.6 荧光显微镜下观察可检测到呈红色的细胞核。激发波长为 535 nm, 发射波长为 615 nm。  
注: 荧光染料都存在淬灭的问题, 建议染色后尽快检测。

#### 二 贴壁细胞染色

- 2.1 取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5 分钟或更长时间, 无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 洗涤三遍, 再用细胞培养液洗涤一遍。将盖玻片置于六孔板内, 种入细胞培养过夜, 生长至 50%-80% 满度。
- 2.2 刺激细胞发生凋亡后, 吸尽培养液, 加入 0.5 ml 固定液, 固定 10 分钟或更长时间(可 4℃ 过夜)。
- 2.3 去尽固定液, 用 PBS 洗两遍, 每次 3 分钟, 吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。

- 2.4 加入 0.5 ml PBS，加入 50  $\mu$ l 碘化丙啶染色液，37 $^{\circ}$ C 避光染色 10-15 分钟，手动晃动数次。
- 2.5 去尽染色液，用 PBS 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。
- 2.6 滴一滴抗荧光淬灭封片液（货号：AM0510）于载玻片上，盖上贴有细胞的盖玻片，让细胞接触封片液，尽量避免气泡。
- 2.7 荧光显微镜下观察可检测到呈红色的细胞核。激发波长为 535 nm，发射波长为 615 nm。
- 注：荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。

● 实验示例：



操作流程： 500 g 3 min 收集 2 ml Jurakt 细胞，细胞密度  $1 \times 10^6$ /ml；细胞沉淀中加入 1 ml 卡诺固定液，常温固定 10 min；1 $\times$ PBS 漂洗两次；细胞沉淀中加入 200 $\mu$ l 1 $\times$ PBS，20  $\mu$ l 碘化丙啶染色液，37 $^{\circ}$ C 避光染色 10 min；离心后细胞沉淀重悬于 100  $\mu$ l 1 $\times$ PBS 中；取 5  $\mu$ l 细胞悬液滴于载玻片上，加 5  $\mu$ l 抗荧光淬灭剂，封片观察。