



PI 染液 (1mg/mL)

产品描述

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种常用的细胞核荧光染料, 是溴化乙锭 (EB) 的类似物, 能够嵌入 DNA 的碱基对间而结合, 无显著的序列偏好, 大约每 4-5 个碱基对结合一个染料分子。PI 也可与 RNA 结合, 为区分 DNA 与 RNA 染色, 通常需添加核酸酶处理。PI 水溶液的最大激发/发射波长为 493/636 nm, 但与核酸结合后, 荧光信号增强 20-30 倍, 且最大激发/发射波长变为 535/617nm。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 (货号: AC12L012) 或 Hoechst 33342 (货号: AC12L022) 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。同时, PI 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 染色也适用于细胞周期分析。

本产品为水溶液形式的 PI 储存液, 浓度为 1 mg/ml, 稀释至适当工作浓度即可使用。

订购信息

产品名称	货号	规格
PI 染液 (1mg/mL)	AS21L031	1mL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C 避光保存, 有效期 6 个月。

使用方法

1. 贴壁细胞复染步骤 (荧光显微镜检测)

1.1 样本准备: 根据自身样本选择合适的步骤固定细胞。PI 染色一般在其它染色完成后再进行。PI 复染要求细胞经透化处理。

1.2 RNase 酶处理: 若样本使用多聚甲醛, 甲醛或者戊二醛固定, 则需要进行 RNase 处理。若样本用甲醇/醋酸或者丙酮固定, 通常不需要此步操作。

1.2.1 在 2×SSC (0.3 M NaCl, 0.03 M sodium citrate, pH 7.0) 溶液平衡样本;

1.2.2 将本品置于含有 100µg/mL DNase-free RNase 的 2×SSC 溶液中 37°C 孵育 20min;

1.2.3 用 2×SSC 溶液清洗样本 3 次, 每次 1min。

1.3 复染

1.3.1 2×SSC (0.3 M NaCl, 0.03 M sodium citrate, pH 7.0) 溶液平衡样本;

1.3.2 直接用 2×SSC 稀释 1mg/ml (1.5 mM) PI 储存液 1:3000, 得到 500 nM 的 PI 工作液。通常添加 300µl 染液足够用于一个盖玻片细胞制片, 染色 1-5min。

1.3.3 2×SSC 清洗几次, 流尽多余的缓冲液后, 加入抗淬灭剂封片。

1.3.4 选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。



2. 悬浮细胞复染步骤 (流式细胞仪检测)

2.1 样本准备: 根据自身样本选择合适的步骤固定细胞。或者使用如下的步骤:

收集一定量的细胞, 密度约 $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 。离心收集细胞, 吸掉上清液, 用手轻弹管壁就剩下的液体重悬细胞。之后加入 1ml 常温存放的 PBS; 将所有重悬细胞转移到 4ml 于 -20°C 预冷的无水乙醇, 在高速涡旋混匀的同时一边用枪缓慢的添加细胞悬液到乙醇内。于 -20°C 乙醇中固定 5-15min。离心收集细胞, 除去乙醇。用手轻弹管壁以弹松细胞后, 加入 5ml 室温的 PBS。允许细胞水化 15min;

2.2 复染

用染色液 (100mM Tris, pH 7.4, 150mM NaCl, 1mM CaCl_2 , 0.5mM MgCl_2 , 0.1% NP-40) 稀释 1mg/ml (1.5 mM) PI 储存液 1:500, 得到 $3\mu\text{M}$ 的 PI 工作液。1ml 的 PI 染色液足够用于每个细胞样本的检测。

注: 工作液的使用浓度可以根据自身实验体系调整, 也可以使用 PBS, HBSS 等缓冲液直接稀释 PI 储存液到需要的浓度。样本制备的最后一步后离心收集细胞, 去除上清, 用手轻弹管壁以弹松细胞后, 加入 1ml 的 PI 染色工作液。室温孵育 15min 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。

3. 染色质 FISH 复染步骤

3.1 样本准备: 根据标准步骤制备样本。复染之前的最后一步用去离子水清洗样本以去除玻片上残留的缓冲盐。室温晾干。此步骤有助于减少非特异性的背景染色。

3.2 复染

工作液的配制: 用 PBS 缓冲液直接稀释 1mg/ml (1.5mM) 的 PI 储存液 1:1000, 得到 $1.5\mu\text{M}$ 的 PI 染色工作液。滴加 $300\mu\text{L}$ 的工作液直接到样本。有必要的話, 工作液内加入新鲜制备的 RNase A (终浓度: 10 mg/mL)。可使用塑料盖玻片均匀分布染液在载玻片上。室温避光条件下孵育样本 30 min; 如果加入 RNase 则 37°C 孵育。去除盖玻片, 用 PBS 或去离子水清洗以除去没有结合的染料; 用吸水纸巾围绕着样本周围吸取残留液体, 盖上玻璃盖玻片后用石蜡或者指甲油封住盖玻片边缘。也可用抗荧光淬灭剂进行封片。选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 碘化丙啶 (PI) 是已知的诱变剂, 因此 PI 溶液在丢弃之前需要先经过活性炭处理。
4. 第一次使用本试剂盒时建议先取 1-2 个样品做预实验。

相关产品推荐

通用型组织细胞固定液 (4%多聚甲醛) (货号: AC28L112)

抗荧光淬灭剂 (货号: AC28L512)

Hoechst 33258 (货号: AC12L012)

Hoechst 33342 (货号: AC12L022)

1X PBS (无菌) (货号: AC08L011)