

**周期检测 Delivector™ Green 绿色**

| 产品货号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|---------------------------|------|
| DW0107 | 周期检测 Delivector™ Green 绿色 | 100T |

产品简介:

细胞周期检测试剂盒是利用细胞内 DNA 能够和荧光染料结合的特性，细胞各个时期其 DNA 含量不同从而结合的荧光染料不同，流式细胞仪检测的荧光强度也不一样来检测细胞周期。

细胞周期 (cell cycle)是指细胞从前一次分裂结束起到下一次分裂结束为止的活动过程，通常由 G0/G1 期、S 期、G2 期和 M 期组成。G1 期：细胞开始 RNA 和蛋白质的合成，但 DNA 含量仍保持二倍体。S 期：DNA 开始合成，这时细胞核内 DNA 的含量介于 G1 期和 G2 期之间。当 DNA 复制结束成为 4 倍体时，细胞进入 G2 期。G2 期的细胞继续合成 RNA 及蛋白质，直到进入 M 期。因此，单纯从 DNA 含量无法区分 G2 期和 M 期。一旦有丝分裂发生，细胞分裂成两个细胞，这两个细胞或者进入下一个细胞周期，或者进入静止期 (G0 期)，而 G0 期从 DNA 含量上同样无法与 G1 期区分。因此，整个复制周期可以描述为 G0/G1、S、G2/M 期。通过核酸染料 PI 标记 DNA,并由流式细胞仪进行分析，可以得到细胞各个时期的分布状态，计算出 G0/G1%、S%、G2/M%，了解增殖能力，在肿瘤病理学研究中，通常以 S 期细胞比率作为判断肿瘤增殖状态的指标。

本试剂盒中的 Delivector™ Green 核酸荧光染料为绿色荧光的核酸染料，能选择性的嵌入核酸 DNA 双链螺旋的碱基之间与之结合，其结合的量与 DNA 的含量成正比例关系，用流式细胞仪进行分析，就可以得到细胞周期各个阶段的 DNA 分布状态，从而计算出各个的百分含量 Delivector™ Green 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。

常规细胞周期检测试剂盒采用 PI 染料，当细胞自身有红色荧光时，不能用 PI 进行细胞周期检测，Dowobio Delivector™ Green 适合用于细胞自带红色的细胞样本的周期检测。

除了本试剂盒提供的绿色荧光细胞周期检测产品，还能提供红色、蓝色、橙色、深红色等荧光颜色的细胞周期检测试剂盒产品。

| 产品名称 | 50T | 100T | 储存条件 |
|----------------------------|------|--------|---------|
| 周期检查 Delivector™ Green 染色液 | 50ul | 100ul | -20°C避光 |
| Rnase A 溶液 | 1ml | 1 ml*2 | -20°C保存 |

产品应用:

流式细胞仪。

使用方法:

1. 细胞处理需要小心操作,尽量避免人为的损伤细胞。
2. 最好使用含 EDTA 的细胞消化液。
3. 洗涤细胞离心转速不可超过 800×g。
4. 乙醇固定时离心大概采用 2000×g 力 5 分钟，离心力太小可能部分细胞难以沉淀。
5. 固定时在振荡器上轻轻振荡细胞，并缓慢滴加 75%乙醇，直接加入会导致细胞团聚的现象，很难重悬成单细胞。或者先用冷 PBS 悬浮细胞，充分悬浮，使细胞充分分散成单细胞。之后缓慢加入无水乙醇，终浓度为 70-90%乙醇。乙醇固定之后须无细胞沉淀。



6. 为防止不同批次细胞在实验时本身所出周期不同导致重复性差，可以在实验前进行细胞的同步化处理，减少批间差异。实验细胞应处于对数生长期，不能是完全长满，一般在 50~80% 比较好。

7. 分析的时候需要的是单个的细胞，400 目筛网过滤是用来将粘在一起的细胞团滤掉，否则会出现人为的多倍体干扰，不过如果经验丰富的操作人员也可以 gate 掉。如果没有条件过滤，请在染色之前将细胞弹的很散，再进行染色。

8. 本试剂盒也可用于非固定细胞周期检测。

9. 组织处理方法：用剪刀将组织剪成小块，用 0.25% 胰酶消化 30min - 1h，200 - 400 目筛网过滤细胞，获得单细胞悬液。如组织难以消化，可加入适量胶原酶。

染色工作液的配制：

1. 根据样本数量，用 37°C 培养箱预热的 PBS 将 Delivector™ Green 荧光染料 500 倍稀释，配制成染色工作液。
2. 收集样本细胞，细胞数量在 $5-10 \times 10^6$ 个。
3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次。
4. 在 15ml 离心管中，用 500 μ l PBS 重悬细胞。
5. 滴加 2-5ml 冷乙醇 4°C 固定过夜或 -20°C 固定 1 小时。
6. 取 5×10^6 细胞，在 15ml 锥形离心管中 1000 \times g 离心 10 分钟，弃上清，收集细胞。
7. 用冷 PBS 洗涤细胞两次。
8. 用 500 μ l 冷 PBS 重悬细胞。
9. 加入 Rnase A 溶液 20 μ l，37°C 水浴 30 分钟。
10. 用 400 目细胞筛网过滤。
11. 在 1000 \times g 离心 10 分钟，弃上清，收集细胞。
12. 加入 500 μ l NucGreen 染液重悬细胞，轻轻混匀后 4°C 避光孵育 30 分钟-2 小时。
13. 流式检测结果。激发波长为 488nm。发射波长 526nm。
14. 采用适当分析软件进行细胞 DNA 含量分析和光散射分析。

本产品文章中的写法：

英文：Dowobio (shanghai,China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海