



## Propidium Iodide

——细胞核红色荧光探针

产品货号	包装规格
<b>C007</b>	<b>10 mg</b>
<b>C008</b>	<b>1 ml, 1mg/ml</b>

储存条件：-20℃，避光保存。

激发/发射波长：535/617 nm, bound to DNA

## 产品说明书

GeneCopoeia, Inc.      广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城  
掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼

邮编：510663

电话：4006-020-200

邮箱：[sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)

网址：[www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)   [www.igenebio.com](http://www.igenebio.com)

# Propidium Iodide

产品货号: C007/C008

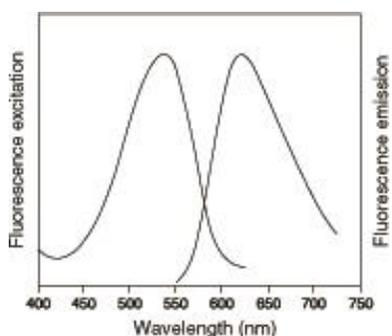
## 产品介绍

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种常用的细胞核荧光染料, 作为一种溴化乙锭 (EB) 的类似物, 能够嵌入碱基之间实现与 DNA 结合。这种结合没有或者几乎无序列倾向性, 大约每 4~5 个 DNA 碱基对结合一个染料。PI 也能与 RNA 结合, 因此需要用核酸酶处理来区分 DNA 和 RNA 染色。水溶液中 PI 的最大激发/发射波长为 493/636 nm。PI 一旦与核酸结合, 荧光信号明显增强 20-30 倍, 最大激发波长向红色波段迁移~30-40 nm, 最大发射波长向蓝色波段迁移~15 nm, 从而使其最大激发/发射波长变为 535/617 nm。PI 的摩尔吸光系数相对较低, 但是其具有足够大的斯托克斯位移来同时检测核酸 DNA 和荧光标记抗体, 只需要使用恰当的滤光片。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细胞核染色。利用这一特性, 通常与 Calcein-AM、Hoechst 33258 或 Hoechst 33342 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。也可以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 的单独染色也可以进行细胞周期的检测。

本产品包装形式为固体 (10mg) 和液体 (1ml, 1mg/ml) 两种。收到产品之后储存于 -20℃ 并避光保存, 固体至少可稳定保存 1 年, 液体至少可稳定保存六个月。

## 光谱特征



Propidium Iodide 结合到双链 DNA 中的激发、发射光谱图

## 注意事项

- 为避免反复冻融, 建议适当分装。
- 对于微量的液体, 每次使用前请先高速离心数秒, 使液体充分沉降到管底。

- 荧光染料不可避免的存在淬灭问题，请存放及操作时尽量注意避光，以减缓荧光的淬灭。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 实验步骤

**注意：**如果需要对组织或未经固定的样品进行染色，本说明书中的实验步骤应作相应调整。

### 贴壁细胞复染（荧光显微镜观察）

**样品准备：**根据样品来源选择合适的固定方法对样品进行固定，一般在其它染色完成后再进行 PI 复染。使用 PI 复染需要对细胞进行固定和透化处理。

### RNase 处理

如果样品使用多聚甲醛，福尔马林或者戊二醛固定，那么样品需要用 RNase 处理；如果样品是用甲醇/冰醋酸或者丙酮固定，通常无需 RNase 处理。

1.1 用 2×SSC（0.3 M 氯化钠，0.03 M 柠檬酸钠，pH 7.0）冲洗样本。

1.2 将样品用浓度为 100 µg/ml，无 DNase 的 RNase（2×SSC 缓冲液配制）在 37°C 温育 20 分钟。

1.3 用 2×SSC 缓冲液冲洗样品，重复三次，每次 1 分钟。

### 样品复染

2.1 将样品置于 2×SSC 缓冲液中平衡。

2.2 将固体 PI 溶于蒸馏水配成 1 mg/ml（1.5 mM）的储存液。

2.3 用 2×SSC 缓冲液按 1:3000 将 1mg/ml（1.5mM）的 PI 储存液稀释至 500 nM。加入染色液覆盖细胞（每个样品大概需要使用 300 µl 染色液），孵育 1~5 分钟。

2.4 用 2×SSC 缓冲液冲洗样本数次。弃去玻片上多余的缓冲液，将玻片置于合适的支架上，滴加抗荧光淬灭剂封片。

2.5 选择合适的滤光片用荧光显微镜镜检。

### 悬浮细胞复染（流式细胞仪观察）

**样品准备：**选择合适的方法对标本进行固定，或者按照以下步骤操作：

3.1 收集  $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  个的悬浮细胞。

3.2 离心细胞，弃去上清液。

3.3 加入 1 ml 常温的 PBS，轻弹离心管管壁使细胞分散于 PBS 缓冲液中。

3.4 在高速旋涡混合的条件下用移液管缓慢将细胞悬液缓慢加入 4 ml -20°C 预冷的无水乙醇中，-20°C 放置 5~15 分钟。

3.5 离心弃去无水乙醇。

3.6 轻弹离心管管壁使细胞分散，并加入 5ml 常温的 PBS，使细胞重新水化 15 分钟。

### 样品复染

4.1 将 1 mg/ml (1.5 mM) 的 PI 储存液用染色缓冲液 (100 mM Tris, pH7.4, 150 mM NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Nonidet P-40) 按 1:500 的比例稀释至 3 μM 浓度。每个细胞样品大约需要使用 1 ml 染色液。

4.2 将从步骤 3.6 获得的细胞悬液离心，弃去上清液。轻弹离心管管壁使细胞分散，加入 1 ml 稀释好的 PI 染色液。室温下孵育 15 分钟。然后使用流式细胞仪观察染色结果。如果使用荧光显微镜观察结果，将样品离心，弃去上清液，用新鲜的缓冲液重悬细胞，吸取一滴细胞悬液于载玻片上，用抗荧光淬灭剂封片并加盖盖玻片，选择合适的滤光片镜检染色结果。

### 染色体 FISH 复染

#### 样品准备

按照操作指南中的标准流程准备样品。染色前用蒸馏水短暂冲洗最后处理过的样品，除去玻片上残留的缓冲液，使样品在空气中干燥。此步骤可以减少由于玻片上残留的缓冲液产生的非特异性染色。

#### 样品复染

5.1 用 PBS 按 1:1000 比例将 1 mg/ml (1.5 mM) 的 PI 储存液稀释为 1.5 μM 的 PI 染色液，用移液器吸取 300 μl 稀释好的染色液加入到样品中。若样品需要加入 RNase A (新鲜配制) 处理，请调节使 RNase A 的终浓度为 10 μg/ml。可用塑料盖玻片使染色液在载玻片上均匀分布。

5.2 将样品避光，室温下温育 30 分钟，如果加入了 RNase，则温育的温度为 37°C。

5.3 小心移去盖玻片，用 PBS 或者蒸馏水洗涤样品，除去未结合的染色液。

5.4 用吸水纸小心从样品边缘将多余的液体吸干，盖上一玻璃盖玻片，边缘用中性树脂或指甲油封片。如果需要抗荧光淬灭剂，请按照试剂厂商提供的指南操作。

5.5 选择合适的滤光片在荧光显微镜下观察染色结果。

### 参考文献

1. Methods Enzymol 168, 741 (1989);
2. Pardue, M.L. in *Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach*, B.D. Hames and S.J. Higgins, Eds., IRL Press, Oxford, England (1985).