

## Propidium Iodide Staining Solution (1mg/mL)

### 碘化丙啶染液 (1mg/mL)

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
PI (Propidium Iodide) 碘化丙啶染液 (1mg/mL)	40710ES03	1 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, 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, 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/发射波长是 493/636 nm。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比较低, 但是其具有足够大的斯托克司频移来同时检测核酸 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。

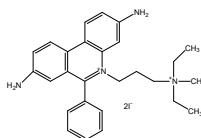
PI 不能穿透细胞膜而被排斥在活细胞外, 但是可以穿过破损的细胞膜而对核染色。利用这一特性, 通常与 Calcein-AM、Hoechst 33258 或 Hoechst 33342 等活细胞荧光探针一起使用, 同时对活细胞和死细胞染色和鉴定, 用于细胞凋亡相关的研究。也可以用作多重荧光染色的复染剂, 兼容于各种细胞标记技术, 包括直接或者间接的荧光抗体检测, mRNA 原位杂交, 细胞结构特异性的荧光探针检测法以及组织染色。PI 的单独染色也可以进行细胞周期的检测。

本品是溶于水的 PI 储存液, 浓度为 1mg/mL, 只需用合适的缓冲液稀释到工作液即可。

#### 产品性质

英文同义名 (English synonym)	2,7-Diamino-9-phenyl-10 (diethylaminopropyl)-phenanthridium iodide methiodide.
CAS 号 (CAS NO.)	25535-16-4
分子式 (Formula)	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> I <sub>2</sub> N <sub>4</sub>
分子量 (Molecular Weight)	668.4
外观 (Appearance)	暗红色结晶
纯度 (Purity)	≥95% by HPLC
溶解性 (Solubility)	溶于水 (1 mg/mL)
荧光光谱 (Fluorescence Spectral)	水溶液, PI 的 Ex/Em= 493/636 nm; PI-核酸的 Ex/Em= 535/617 nm; 荧光可用氙气灯, 泵弧灯或者 488 nm 氩离子激光激发。通常情况下, 用流式细胞仪的 FL2 通道检测。

#### 结构式 (Structure)



#### 运输与保存方法

冰袋 (wet ice) 运输。4 °C 避光保存, 至少 1 年稳定。

#### 注意事项

1) 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。

- 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) 本产品仅作科研用途!

## 使用方法

### 1. 贴壁细胞复染步骤 (荧光显微镜检测)

- 1) **样本准备:** 根据自身样本选择合适步骤固定细胞。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。
- 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。a, 于 2×SSC (0.3 M NaCl, 0.03 M sodium citrate, pH 7.0) 溶液平衡样本; b, 将本品置于含有 100 µg/mL DNase-free RNase 的 2×SSC 溶液中 37°C 孵育 20 min; c, 用 2×SSC 溶液清洗样本 3 次, 每次 1 min。
- 3) **复染:** a, 于 2×SSC (0.3 M NaCl, 0.03 M sodium citrate, pH 7.0) 溶液平衡样本; b, 直接用 2×SSC 稀释 1 mg/mL (1.5 mM) PI 储存液 1:3000, 得到 500 nM 的 PI 工作液。通常添加 300 µL 染液足够用于一个盖玻片细胞制片。染色 1-5 min。c, 2×SSC 清洗几次, 流尽多余液体, 加入抗淬灭剂封片 (Yeasen, Cat#36308ES08)。d, 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)

- 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:
  - a. 收集细胞, 密度约  $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 。离心后吸除上清, 轻弹管壁就剩下的液体重悬细胞。加入 1 mL 常温存放的 PBS;
  - b. 将所有的重悬细胞转移到 4 mL 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 5-15 min。
  - c. 离心收集细胞, 除去乙醇。轻弹管壁以弹松细胞后, 加入 5ml 室温的 PBS。允许细胞水化 15 min;
- 2) **复染**
  - a. 用染色液 (100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Nonidet® P-40) 稀释 1 mg/mL (1.5 mM) PI 储存液 1:500, 得到 3 µM 的 PI 工作液。1 mL 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, 也可以直接使用 PBS, HBSS 等缓冲液直接稀释 PI 储存液到需要的浓度。
  - b. 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 1 mL 的 PI 染色工作液。室温孵育 15 min 后, 流式细胞仪进行细胞分析。若用显微镜观察, 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

- 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液。室温晾干。此步骤有助于减少非特异性的背景染色。
- 2) **复染**
  - a. 工作液的配制: 用 PBS 缓冲液直接稀释 1 mg/mL (1.5 mM) 的 PI 储存液 1:1000, 得到 1.5 µM 的 PI 染色工作液。滴加 300 µL 的工作液直接到样本。有必要的, 工作液内加入新鲜制备的 RNase A (终浓度: 10 µg/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。
  - b. 去除盖玻片, 用 PBS 或去离子水清洗以除去没有结合的染料。
  - c. 用吸水纸围绕样本周围吸取残留液体, 盖上玻璃盖玻片用石蜡或指甲油封住盖玻片边缘。也可用抗荧光淬灭剂进行封片。
  - d. 选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。