

流式细胞周期检测SOP

1.主要仪器

表1 实验所用主要仪器

所用仪器	仪器型号	公司
分析型流式细胞仪	CytExpert	Beckman
冷冻离心机	neofuge 15R	Heal force
CO ₂ 培养箱	HF90	Heal Force
倒置相差显微镜	IX71	Olympus
生物安全柜	HF-1200LC	Heal Force
电热恒温水浴锅	HH-US-A	美标

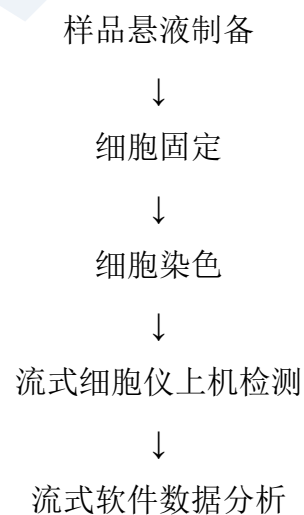
2.主要试剂

表2 主要试剂及其生产公司

试剂名称	货号	生产公司
DMEM	SH30243.01B	Hyclone
RPMI-1640	SH30809.01B	Hyclone
胎牛血清	SH30084.03	Hyclone
PBS	C10010500BT	Life
PI solution	421301	Biologend
Triton X-100	T9284-100ml	sigma
Rnase A solution	B500474	生工

3.实验内容

3.1实验流程



3.2 实验操作

3.2.1 试剂准备

配制1ml DNA染液:

- (1) PI solution 20ug
- (2) Triton x -100 1ul
- (3) Rnase A solution 0.2mg
- (4) 加入PBS PH 7.4 定容到1ml, 混匀, 4度备用。

配制70%的乙醇: 无水乙醇用去离子水配制成70%的乙醇, -20度预冷保存备用。

3.2.2 实验步骤

- (1) 吸取培养皿或培养板中的上清液转移至微型管中保存。
- (2) 用PBS洗细胞2次, 收集清洗液保存。
- (3) 用0.25%胰蛋白酶消化细胞 (不含EDTA), 37度, 2~3min。
- (4) 用适量的培养基或PBS将细胞悬液转移至离心管中, 将第一步的上清液和第二步的清洗液一并加入。
- (5) 1000rpm 离心5 min, 弃上清。
- (6) 加入PBS后1000rpm 离心5 min, 弃上清。重复本步操作一遍。
- (7) 用50~100 ul 的 PBS重悬细胞沉淀, 细胞量控制在 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ 个。
- (8) 将细胞沉淀缓缓加入到预先配好的预冷的70%的乙醇中, 混匀、4度固定过夜。
- (9) 1500rpm 离心10 min, 弃上清。
- (10) 加入PBS后1500rpm 离心10 min, 弃上清。重复本步操作一遍。
- (11) 加入200ul 的预先配好的DNA染液, 室温避光孵育15min。尽快上机检测。

The end



• 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台