



PI染色液（1mg/mL）说明书

货号：WGD-X-3100151

产品简介

本司生产的 PI 染色液（1mg/mL）是一种常用的高灵敏度、高特异性的细胞核荧光染料，其主要成分为碘化丙啶（PI）。作为溴化乙锭（EB）的类似物，PI 能够嵌入双链 DNA 或 RNA 碱基之间，在激发光下发出红色荧光。PI 在水溶液中的最大激发/发射波长是 493/636 nm，当与核酸结合后，荧光信号明显放大到 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/发射波长转变为 535/617 nm。

此外，PI 染色液作为一种非细胞膜渗透性荧光染料，不能穿透具有生物活性的细胞膜而被排斥在活细胞外，只能通过细胞膜的破损区域从而到达细胞内，因此广泛应用于基于流式细胞术、荧光显微镜等实验技术下的核定位与形态分析、细胞凋亡与坏死检测、细胞周期分析及细胞膜完整性/死细胞鉴定等。

本产品是 PI 的水溶液，浓度为 1mg/mL，只需用合适的缓冲液稀释到工作液即可。PI 单染可用 488nm 激发光激发，或用 FL2 通道检测；若与 FITC 或 PE 标记抗体/蛋白联合使用可用 FL3 通道检测。

产品目录

产品名称	规格
PI 染色液（1mg/ml）	1 mL

产品组成

组分	含量
PI 染色液（1mg/ml）	1 mL

产品用途

本产品适用于基于流式细胞术、荧光显微镜等实验技术下的核定位与形态分析、细胞凋亡与坏死检测、细胞周期分析及细胞膜完整性/死细胞鉴定等。

产品特点

- 1. 纯度高：PI 纯度≥99.7%，确保更低杂质干扰，染色结果稳定可靠。
- 2. 操作简便：本产品为水溶液，可直接使用或按实验需求稀释，操作便捷。
- 3. 适用范围广：适用于哺乳动物、植物细胞及细菌的核酸染色，兼容流式细胞术、荧光显微镜等多种检测平台。
- 4. 死细胞标记：因 PI 无法穿透完整细胞膜，可特异性标记膜受损的死亡细胞，最低可检测至 1%的死细胞比例。

注意事项

- 1. 荧光染料均存在淬灭问题，应尽量避免光，以减缓荧光淬灭。
- 2. 避免细菌或真菌污染，可能会严重影响检测效果。
- 3. 避免反复冻融，建议 50-100μL/管分装保存。
- 4. 染色后宜尽快检测，时间过长可能会导致坏死细胞数量的增加。
- 5. PI 和 FITC 的发射光谱有部分重叠，因此与 FITC 等绿色荧光染料联用时需调整荧光补偿。
- 6. PI 是已知的诱变剂，属于潜在致癌物，因此 PI 溶液在丢弃之前需要先经过活性炭处理。
- 7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴口罩与一次性手套操作。
- 8. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。



操作步骤

1. 贴壁细胞复染步骤:

1.1 PI 染色工作液配制: 根据不同实验要求, 选择无菌水、PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 PI 染色液 (1mg/mL), 配制成 20-50 $\mu\text{g/mL}$ 的 PI 染色工作液。

1.2 固定: 选择合适的步骤固定并通透细胞。PI 染色一般在其它染色完成后进行。PI 复染要求细胞经通透处理。

1.3 染色: 加入 200 μL 染色工作液, 轻轻晃动使其完全覆盖细胞, 室温避光孵育 5-30 分钟。

1.4 洗涤: 吸去染色工作液, 用 PBS 或培养基洗涤 2-3 次, 每次 3-5 分钟。

1.5 观察: 选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

注: 若需要用流式细胞仪检测, 需将细胞用胰蛋白酶消化重悬后再进行染色, 可参考悬浮细胞复染步骤。

2. 悬浮细胞复染步骤:

2.1 PI 染色工作液配制: 根据不同实验要求, 选择无菌水、PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 PI 染色液 (1mg/mL), 配制成 20-50 $\mu\text{g/mL}$ 的 PI 染色工作液。

2.2 洗涤: 离心收集细胞, 加入 PBS 洗涤 2-3 次, 每次 3-5 分钟。

2.3 染色: 每 1×10^6 个细胞加入 200 μL 染色工作液, 室温避光孵育 5-30 分钟。

2.4 洗涤: 离心, 弃去上清, 加入 PBS 洗涤细胞 2-3 次, 每次 3-5 分钟。

2.5 观察: 使用荧光显微镜或流式细胞仪观察染色结果。

3. 染色质 FISH 复染步骤:

3.1 PI 染色工作液配制: 选择 PBS 缓冲液按 1:1000 稀释 PI 染色液 (1mg/mL), 配制成 1 $\mu\text{g/mL}$ 的 PI 染色工作液。有必要的, 工作液内加入新鲜制备的 RNase A (终浓度: 100 $\mu\text{g/mL}$)。

3.2 样本准备: 根据标准步骤制备样本。

注: 复染前使用 $2 \times \text{SSC}$ 缓冲液温和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背景。

3.3 染色: 加入 20 μL PI 染色工作液, 室温避光孵育 30 分钟; 如果加入 RNase A 则 37°C 孵育。

3.4 洗涤: 去除盖玻片, 用 $2 \times \text{SSC}$ 缓冲液清洗以除去没有结合的染料。

3.5 封片: 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。也可用水溶性抗荧光淬灭封片剂进行封片。

3.6 观察: 选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

注: $2 \times \text{SSC}$ 缓冲液配方: $0.3\text{M NaCl} + 0.03\text{M Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 调节 pH 至 7.0 ± 0.2 。

不可用 PBS 缓冲液替代 $2 \times \text{SSC}$ 缓冲液。

应用场景	推荐浓度	染色时间	注意事项
细胞固定后核染/ 死细胞检测	1-5 $\mu\text{g/mL}$	5-15 min	常规使用, 背景低
流式细胞周期分析	50 $\mu\text{g/mL}$	15-30 min	必须 100 $\mu\text{g/mL}$ RNase A 处理
凋亡检测	1-2 $\mu\text{g/mL}$	5-10 min	需设置单染对照 (FITC、PI 单独染色) 调节补偿
组织切片	5-10 $\mu\text{g/mL}$	10-15 分钟	厚组织切片需延长染色时间至 15 分钟

储存及运输条件

-25 ~ -15 $^\circ\text{C}$ 避光保存 12 个月, 冰袋运输。

常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
染色信号弱或无信号	激发光/滤光片设置错误	检查仪器通道设置: 建议用 488nm 激发光激发; 流式细胞检测时也可用 FL2 或 FL3 通道检测
染色后细胞成团	样本中含有血清或蛋白	染色前用 PBS 充分洗涤去除血清



与 FITC 双染时补偿困难	PI 和 FITC 光谱重叠	改用 PE 代替 FITC（减少光谱重叠）
	电压或补偿设置不当	使用单染样本（仅 PI 或仅 FITC）调节补偿

