



PI染色液（即用型）说明书

货号：WGD-X-3100152

产品介绍

本司生产的 PI 染色液（即用型）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。

本产品是溶于 PBS 的即用型 PI 染色工作液，已过滤除菌，可直接使用。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（即用型）	100 mL

产品组成

组分	含量
PI 染色液（即用型）	100 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 $\geq 99.7\%$ ，确保更低杂质干扰，染色结果稳定可靠。
2. 操作简便：本产品为溶于 PBS 的即用型 PI 染色工作液，已预先优化浓度，可直接使用，减少操作误差。
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结果。
3. 避免反复冻融，建议 1 mL/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 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。
- 1.2 染色: 加入 200 μL PI 染色液 (即用型), 轻轻晃动使其完全覆盖细胞, 室温避光孵育 5-30 分钟。
- 1.3 洗涤: 吸去染色液, 用 PBS 或培养基洗涤 2-3 次, 每次 3-5 分钟。
- 1.4 观察: 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:

- 2.1 洗涤: 离心收集细胞, 加入 PBS 洗涤 2-3 次, 每次 3-5 分钟。
- 2.2 染色: 每 1×10⁶ 个细胞加入 200 μL PI 染色液 (即用型), 室温避光孵育 5-30 分钟。
- 2.3 洗涤: 离心, 弃去上清, 加入 PBS 洗涤细胞 2-3 次, 每次 3-5 分钟。
- 2.4 观察: 选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

3. 染色质 FISH 复染步骤:

- 3.1 PI 染色工作液配制: 本产品为溶于 PBS 的即用型 PI 染色工作液, 可直接使用。有必要的, 工作液内加入新鲜制备的 RNase A (终浓度: 100 μg/mL)。
- 3.2 样本准备: 根据标准步骤制备样本。
注: 复染前使用 2× 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 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× 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× SSC 缓冲液配方: 0.3M NaCl+0.03M Na₃C₆H₅O₇ · 2H₂O, 调节 pH 至 7.0 ± 0.2。
不可用 PBS 缓冲液替代 2× SSC 缓冲液。

储存及运输条件

-25 ~ -15°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	PI 染色液稀释过度或储存不当导致失效	确认染色液未过期, 避光保存; 也可使用 PI 染色液 (1mg/ml) 稀释至合适浓度
	细胞未通透充分	可根据实验目的选择合适的通透剂
	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
	样本核酸含量低	增加细胞数量 (建议 ≥1×10 ⁶ /mL) 或检查样本制备步骤 (避免 DNA 酶污染)
非特异性染色 (高背景值)	样本中有游离 DNA (如凋亡小体或碎片)	染色前用 PBS 缓冲液洗涤细胞 2-3 次, 也可添加 DNase 处理游离 DNA (仅适用于特定实验)
	未去除 RNA, 导致 PI 同时结合 DNA 和 RNA	加入 RNase A, 37°C 孵育 30 分钟, 以消除 RNA 干扰
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
	样本中含有血清或蛋白	染色前用 PBS 充分洗涤去除血清



PI 染色液出现沉淀	溶剂挥发导致浓度变化	使用前短暂离心（12,000 rpm, 1 分钟）
	储存条件不合格	分装并于-25 ~ -15℃避光保存

