项目结题报告

项目名称：细胞周期实验

# 仪器与试剂

## 实验仪器

## 实验试剂

# 实验方法和分组

## 实验方法

实验原理：细胞周期（Cell Cycle)：是指细胞从前一次分裂结束起到下一次分裂结束为止的活动过程，通常由 G0/G1 期、S 期、G2/M 期组成。G0/G1 期：二倍体细胞的 DNA 含量(2N)。S 期：DNA 开始合成，这时细胞核内 DNA 的含量介于 G1 期和 G2 期之间。G2/M 期：DNA 复制结束成为 4 倍体（4N）。碘化丙啶(Propidium, PI)为插入性核酸荧光染料，能选择性的嵌入核酸 DNA 或RNA 双链螺旋的碱基之间，产生红色荧光，并且荧光强度和所嵌入的核酸含量成正比。细胞周期检测时，首先用 RNA 酶将 RNA 消化排除影响，通过流式细胞术检测 PI 荧光强度直接反映细胞各时相的 DNA 分布状态，从而计算出各时相的百分率。

具体步骤：

1、若为贴壁细胞，待各实验组 6 cm dish 细胞生长至覆盖率约为 80%时（细胞未进入生长平台期），胰酶消化，完全培养基重悬成细胞悬液，收集细胞于 5 mL离心管中，每组设三个复孔(为保证上机细胞数足够，细胞数目≥10的6次方/处理）。若为悬浮细胞，直接收集。

2、1300 rmp 离心 5 min，弃上清，4℃ 预冷的 D-Hanks（pH=7.2~7.4）洗涤细胞沉淀 1 次。

3、1300 rmp、5 min 离心，4℃预冷的 75%乙醇固定细胞过夜。

4、1300 rmp 离心 5 min 去固定液，D-Hanks 洗涤细胞沉淀一次，同步骤 2。

5、加入 250μl PBS，5μl 10 mg/ml 的 RNA 酶(RnaseA)，使其终浓度达到0.2-0.5 mg/ml，加 10μl 的 PI(终浓度为 10 μg/ml)，避光置于37°C孵育 1h，中间过程多次振荡，使其反应均匀 。

6、上机检测，数据分析。

## 实验分组

# 结果与讨论

## 数据平均值和标准差

## 图表绘制

## 实验结论

## 原始实验数据

《原始实验数据》文件夹内含有流式分选原始结果图。