

实验报告书

项目名称：流式细胞仪检测 A172 细胞周期的实验报告

客户姓名：

合同号：

项目负责人：

一、 实验仪器与试剂

表格一：实验仪器

仪器	厂家	型号
细胞培养箱	Thermo Scientific	HERA cell CO ₂
低温高速离心机	64R	BECKMAN
流式细胞仪	BD	FACS Calibur

表格二：试剂

试剂	厂家
DMEM 培养液	Hyclone
PI	Sigma
PBS 7.4 (0.1 M)	自配
乙醇	国药集团
RNA 酶	Sigma

二、 实验步骤

1. 细胞培养

取对数生长期的 A172 细胞，按 1×10^5 个/mL 以 1mL 体积接种于 6 孔板内。
无抗生素培养液培养过夜，到转染时使细胞达到 70% 的汇合率。

2. 转染

- 1) 将 12.5uL siRNA 溶于 387.5uL 无血清的 DMEM 中，混合均匀。
- 2) 将 12.5uL Lipofectamine 2000 溶于 387.5uL 无血清的 DMEM 中，混合均匀。在室温下孵育 5 分钟。
- 3) 将上述两种混合物混合（总体积 800uL），轻轻混合均匀在室温下孵育 20 分钟形成复合物。
- 4) 在 6 孔板中每孔加入 800uL 复合物。十字法混合均匀。
- 5) 细胞在 37°C、5%CO₂ 培养箱中培养 6h 后弃上清液，并加入 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液。

3. 固定

培养 48h 后小心吸去上清，胰酶消化并离心收集细胞（1000rpm/min），弃上清，用预冷 PBS 洗细胞 2 次，加入预冷 70% 乙醇，-20°C 固定保存。

4. 染色

上海秉新生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区龙吴路 2715 号 2A 楼 110 室

电话：021-54438753

网址：www.bio-nano.com.cn

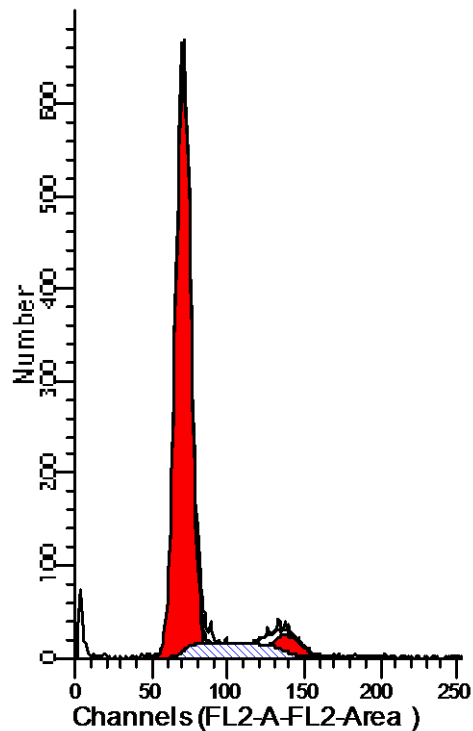
邮箱：service@bio-nano.com.cn

- 1) 离心，弃上清；
 - 2) 1mL PBS 洗 1 次，离心；
 - 3) 加入 10uL RNase A (20ug/mL) 于 500uL PBS, 37 度 30min 孵育后，离心；
 - 4) PBS 洗 1 次，离心；
 - 5) 加 10uL PI (50 ug/mL)于 500 uL PBS，室温避光 30min。
5. 检测

以标准程序用流式细胞仪检测，汞激发波长 488nm，计数 1 万个细胞，结果使用 Modfit 软件分析。

三、 实验结果

正常培养组



Diploid: 100.00 %

Dip G1: 82.95 % at 70.54

Dip G2: 6.33 % at 137.42

Dip S: 10.72 % G2/G1: 1.95

%CV: 6.97

Total S-Phase: 10.72 %

Total B.A.D.: 0.00 % no debris no aggs

上海秉新生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区龙吴路 2715 号 2A 楼 110 室

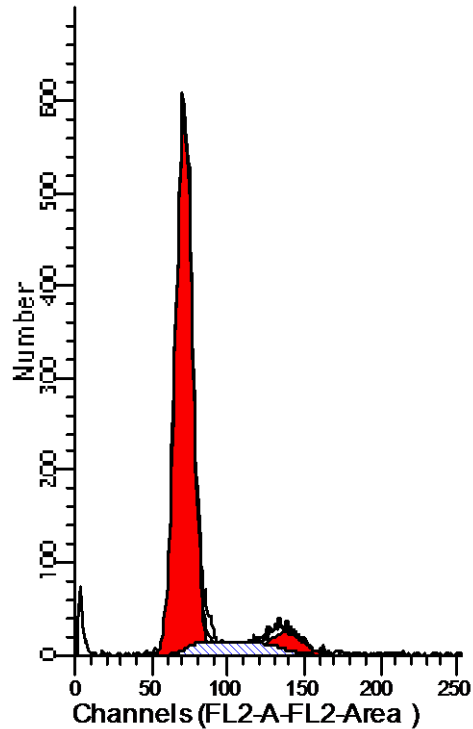
电话：021-54438753

网址：www.bio-nano.com.cn

邮箱：service@bio-nano.com.cn

Debris: %
Aggregates: 0.00 %
Modeled events: 9459
All cycle events: 9459
Cycle events per channel: 139
RCS: 2.431

转染试剂组

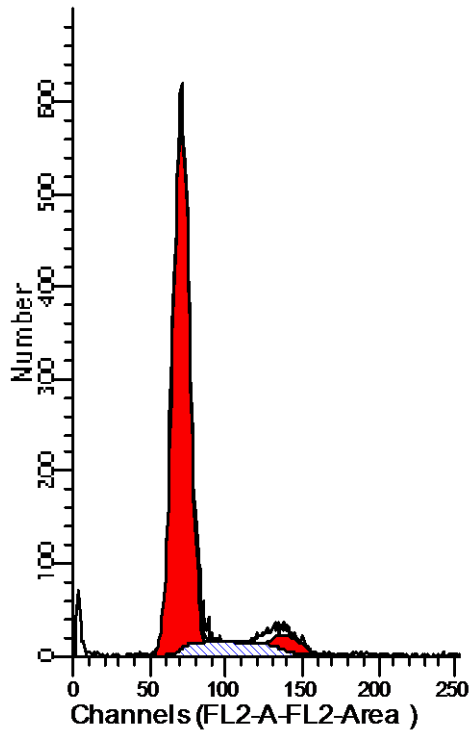


Diploid: 100.00 %
Dip G1: 84.18 % at 71.04
Dip G2: 6.96 % at 137.53
Dip S: 8.86 % G2/G1: 1.94
%CV: 7.75

Total S-Phase: 8.86 %
Total B.A.D.: 0.00 % no debris no aggs

Debris: %
Aggregates: 0.00 %
Modeled events: 9481
All cycle events: 9481
Cycle events per channel: 140
RCS: 2.413

阴性 siRNA 对照组



Diploid: 100.00 %

Dip G1: 83.08 % at 70.57

Dip G2: 6.70 % at 137.30

Dip S: 10.22 % G2/G1: 1.95

%CV: 7.67

Total S-Phase: 10.22 %

Total B.A.D.: 0.00 % no debris no aggs

Debris: %

Aggregates: 0.00 %

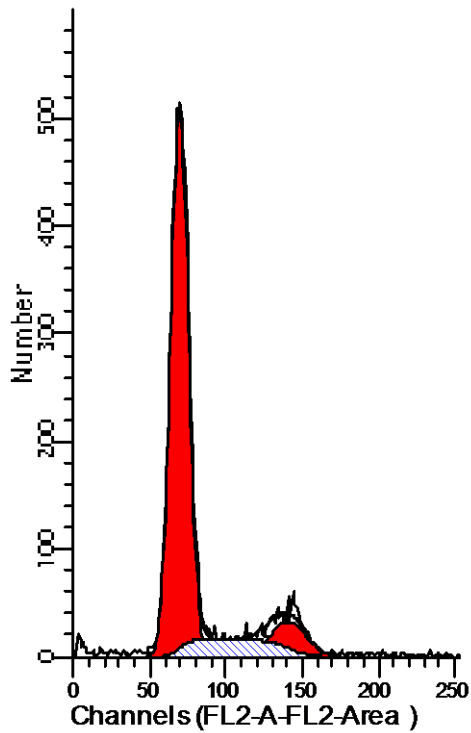
Modeled events: 9485

All cycle events: 9485

Cycle events per channel: 140

RCS: 2.302

实验 siRNA 组



Diploid: 100.00 %

Dip G1: 77.52 % at 69.43

Dip G2: 10.00 % at 140.73

Dip S: 12.49 % G2/G1: 2.03

%CV: 8.33

Total S-Phase: 12.49 %

Total B.A.D.: 0.00 % no debris no aggs

Debris: %

Aggregates: 0.00 %

Modeled events: 9475

All cycle events: 9475

Cycle events per channel: 131

RCS: 2.366