

■ 概述

NovoCyte 是一款强大智能的流式检测平台，可同时检测 13 个荧光染料，15 个参数。该系统独特的设计，广泛应用于多种生物学功能检测，包括细胞增殖、活性、细胞周期、细胞凋亡等。本文介绍了应用 NovoCyte 如何对细胞周期进行智能化检测和分析。

真核细胞分裂在遵循进化守恒定律，在分裂时，将细胞组合均等的评分到各个子细胞中。探讨细胞分裂各阶段的分子机制对研究人类疾病如癌症等非常重要。细胞进入分裂期后，会严格执行细胞周期各阶段的程序及分子事件。细胞分裂周期主要分为三个阶段，利用流式细胞术很容易即可检测到。包括：G1 期，主要是细胞器的复制，细胞增大；接着，细胞进入 S 期，主要是 DNA 的复制；最后细胞进入 G2/M 期，细胞将各组分平均分配到各个

子细胞中。

本文利用 NovoCyte 研究细胞分裂各阶段。Jurkat T 细胞用不同的化合物处理，这些化合物可将细胞增殖过程阻断在 G1 及 G2/M 期。细胞经化合物处理后，70% 预冷乙醇固定，PI 染色，PI 可与胞内 DNA 结合，从而对 DNA 含量进行定量分析。如 Figure1 所示，5-FU 将细胞分裂阻断在 G1 期，数据显示，药物处理后 G1 期细胞比例与对照组相比显著升高（17.85%）；Paclitaxel 是一类抗有丝分裂药物，可将细胞分裂阻断在 G2/M 期，数据显示，Paclitaxel 处理后，G2/M 期细胞比例提高了 52.7%。该实验表明，NovoCyte 可对细胞周期各阶段细胞群进行精确定量分析。

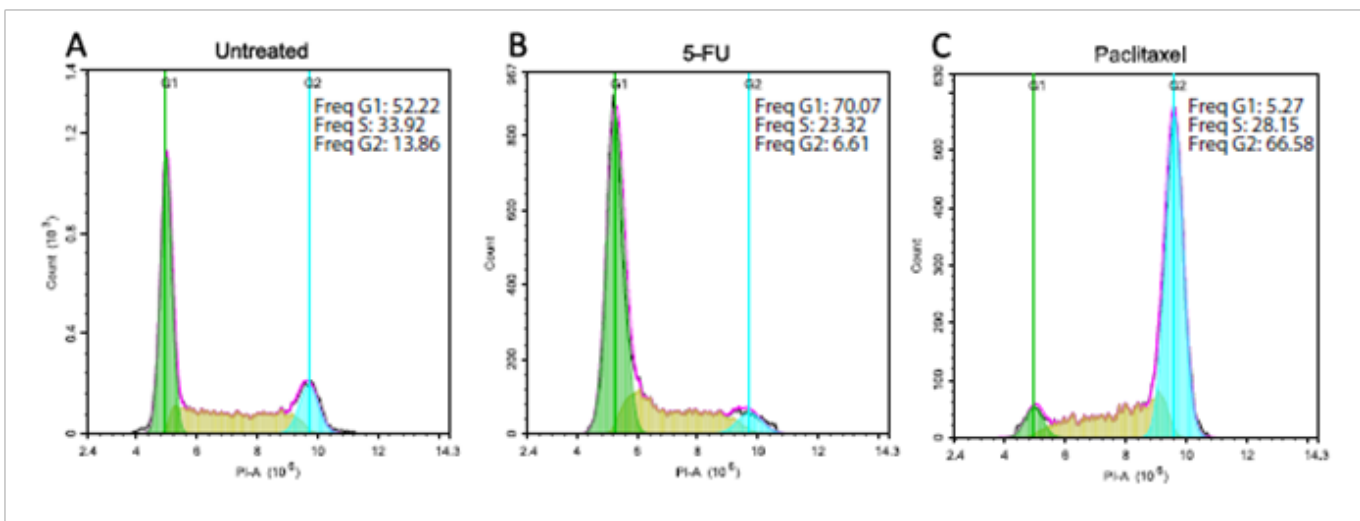


Figure1 . 药物处理后细胞周期分析。A. 未处理对照组 Jurkat T 细胞；细胞经 500uM 5-FU (B) 或 Paclitaxel 处理 16h (C)，然后乙醇固定细胞，PI 染色，NovoCyte 采集数据并分析。

细胞分裂的结果是细胞数目增多及细胞生长，市面上有许多试剂专用于研究细胞增殖及细胞周期，本文使用 CFSE 试剂来研究细胞增殖。细胞被 CFSE 染料标记后，发生分裂时，染料随之均分给子细胞，由此，伴随着细胞分裂与增殖，CFSE 荧光量呈梯度稀释。实验中，用 CFSE 染料 Jurkat T 细胞，每隔 24h 检测一次 CFSE，如 Figure2A 所示，每检测一次，CFSE 荧光量便稀释一次，表明细胞在分裂和增殖；荧光均值 MFI 与相应的细胞浓度随时间变化情况及二者之间的对应关系如 Figure2B。

细胞周期分析可通过 NovoExpress 软件上专用于周期分析的 Watson 模块快速获取数值。首先，圈门去碎片找到感兴趣细胞群，然后圈门去除粘连细胞，最后软件快速拟合细胞周期，并自动计算各周期细胞比例及相关数值如 CV 值，G2/G1 比值等。

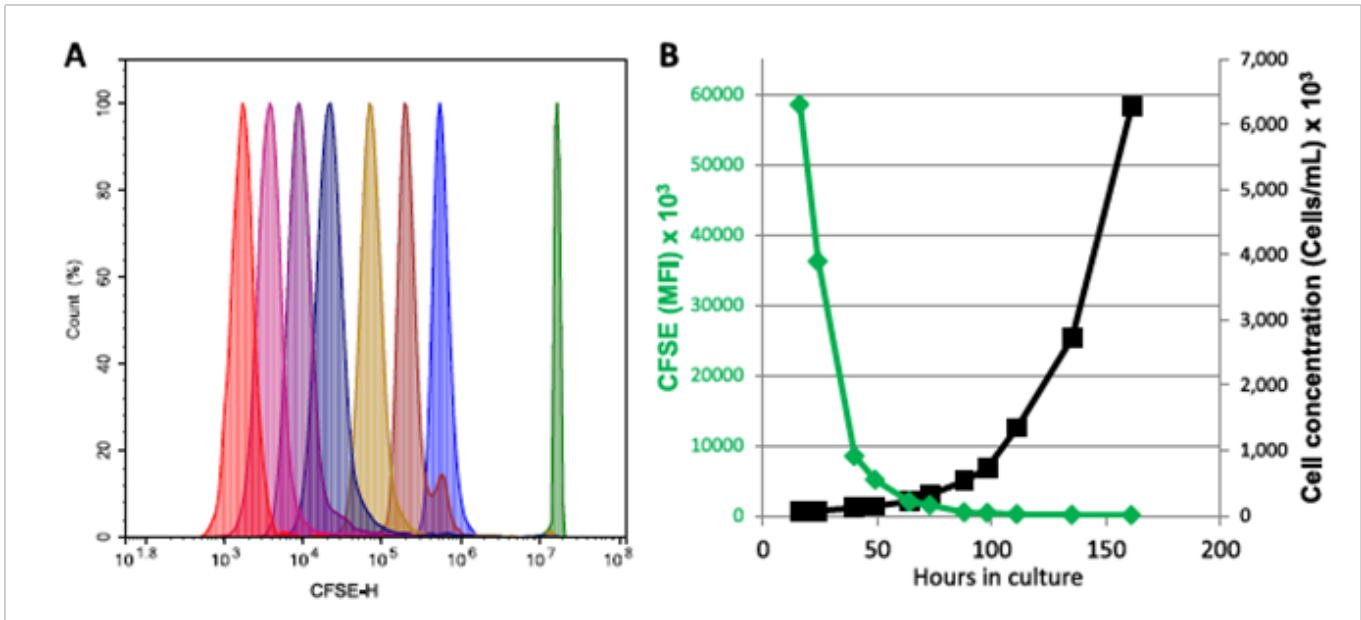


Figure 2. CFSE 染色评估 Jurkat T 细胞增殖。A. Jurkat T 细胞用 CFSE 染料染色，NovoCyte 流式细胞仪检测评估随时间进程细胞分裂情况。每一个峰代表一个时间点的检测数值，随着时间的推移，荧光值逐渐降低。B. 随时间变化，细胞绝对计数值及荧光均值 MFI 变化情况，提示细胞在进行分裂增殖。

