

Annexin V-FITC-PI 细胞凋亡检测试剂盒

产品信息

产品货号：REK0001

产品规格：20T/50T/100T

保存条件：4℃保存 6 个月；避免反复冻融

产品组分：

	25 Tests	50 Tests	100 Tests
AnnexinV-FITC	125μl	250μl	500μl
10×Binding Buffer	1.5ml	2.5ml	6.5ml
Propidium Iodide	125μl	250μl	500μl

产品描述

在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸只分布在细胞膜脂质双层的内侧，细胞发生凋亡最早期，膜磷脂酰丝氨酸（PS）由脂膜内侧翻向外侧，这一变化早于细胞皱缩、染色质浓缩、DNA 片断化和细胞膜的通透性增加等凋亡现象。Annexin V 是一种磷脂结合蛋白，与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力，故可通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此 Annexin V 被作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但凋亡中晚期的细胞和死细胞由于细胞膜通透性的增加，PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此将 Annexin V 与 PI 匹配使用，就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

操作步骤

贴壁细胞需用 0.25% 的胰酶消化。注意过度消化可损伤细胞。在消化时可加 2% 的 BSA 可防止消化过度。如果用含 EDTA 的胰酶消化时，注意必须彻底清除 EDTA：在标记前用 1×PBS 或 1×binding buffer 洗涤，清除 EDTA，以免残余的 EDTA 与 Ca²⁺螯合，影响 Annexin V 的结合。

1. 用去离子水将 10×Binding Buffer 稀释成 1×Binding Buffer；
2. 细胞收集：
3. 悬浮细胞收集：离心 5 分钟；
4. 贴壁细胞：用不含 EDTA 的胰酶消化收集后在室温中，2000rpm 离心 5~10 分钟，收集细胞；
5. （注：胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞膜上磷脂酰丝氨酸与 Annexin V-FITC 的结合）
6. 细胞洗涤：用预冷 1×PBS（4℃）重悬细胞一次，2000rpm 离心 5~10 分钟，弃上清洗涤细胞；
7. 加入 300μL 的 1×Binding Buffer 悬浮细胞；
8. Annexin V-FITC 标记：加入 5μL 的 Annexin V-FITC 混匀后，避光，室温孵育 15 分钟；
9. PI 标记：上机前 5 分钟再加入 5μL 的 PI 染色；

Annexin V-FITC-PI 细胞凋亡检测试剂盒

10. 上机前，补加 200 μ L 的 1 $\times$ Binding Buffer。注意：每个反应体系建议细胞数为 1×10^4 至 1×10^6 个

操作说明

1. 使用前低速离心，以免液体积存管盖和管壁；
2. 本试剂只适用于实验，不适用于临床检测；
3. PI (propidium iodide, 溴化丙锭) 有毒性，能通过皮肤吸收，对眼睛有刺激作用，使用时需戴手套；
4. Annexin V-FITC 和 PI 是光敏物质，在操作时请注意避光。在处理和标记时，尽可能在暗处进行。在孵育阶段，用铝箔包裹容器或置于抽屉中。细胞标记后，在暗室内用显微镜观察；
5. 整个操作过程动作要尽量轻柔，勿用力吹打细胞，尽量在 4 $^{\circ}$ C 下操作，以免影响细胞状态。
6. 在细胞洗涤的最后一步，请尽量将上清弃净，以免 PBS 残留，有可能会影响实验结果。
7. 为防止荧光衰变，宜在 1 小时内进行流式检测。
8. PI 染色时间过长有可能造成检测的凋亡率偏高，建议首先进行 Annexin V-FITC 染色，最短可在上机前 5 分钟再加入 PI 染色。

注意事项

本产品仅作科研实验使用，不支持临床等研究