



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(增强型)

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|-------------|-----------------------------------|------|
| R32129-50T | AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(增强型) | 50T |
| R32129-100T | AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(增强型) | 100T |

产品简介:

在正常细胞中, 磷脂酰丝氨酸 (PS) 只分布在细胞膜脂质双层的内侧, 而在细胞凋亡早期, 细胞膜中的磷脂酰丝氨酸 (PS) 由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 是一种分子量为 35~36kD 的 Ca^{2+} -依赖性磷脂结合蛋白, 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。将 Annexin V 进行荧光素 FITC 标记, 以标记了的 Annexin V 作为荧光探针, 利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。

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, 但对凋亡中晚期的细胞和死细胞, 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。

本试剂盒可应用于培养细胞凋亡检测 (不推荐用于检测组织样本)。

产品组成:

| 产品编号 | 产品名称 | R32129-50T | R32129-100T |
|------|------------------|------------|-------------|
| 1 | AnnexinV-FITC | 250uL | 500uL |
| 2 | Propidium Iodide | 250uL | 500uL |
| 3 | Binding Buffer | 25 mL | 50mL |

使用方法:

- 1、悬浮细胞离心 (2000rpm 离心 5min) 收集; 贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集 (注: 胰酶消化时间不易过长, 否则容易引起假阳性);
- 2、用 PBS 洗涤细胞二次 (2000rpm 离心 5min) 收集 $1\sim5\times10^5$ 细胞;
- 3、加入 500uL 的 Binding Buffer 悬浮细胞;
- 4、加入 5uL Annexin V-FITC 混匀后, 加入 5uL Propidium Iodide, 混匀;

5、室温、避光、反应 5~15min;

6、请在 1h 内, 进行下述荧光显微镜或流式细胞仪的观察和检测。

A. 荧光显微镜观察

1) 滴一滴上述染色后的细胞悬液于载玻片上, 并用盖玻片盖上细胞;

2) 对于贴壁细胞来说, 也可直接用盖玻片来培养细胞并诱导细胞凋亡;

1、将细胞于盖玻片上生长, 用适当的凋亡诱导剂诱导细胞凋亡, 并设立阴性对照组;

2、用 PBS 洗涤细胞两次;

3、在 500uL 的 Binding Buffer 中加入 5uL Annexin V-FITC, 5uL Propidium Iodide, 混匀;

4、将上述溶液滴加于盖玻片表面, 使盖玻片表面均匀覆盖;

5、避光、室温反应 5min。

6、将盖玻片倒置于载玻片上, 于荧光显微镜下、双色滤光片 (FITC 和罗丹明) 观察。Annexin V-FITC 荧光信号呈绿色, PI 荧光信号呈红色。

B. 流式细胞仪分析

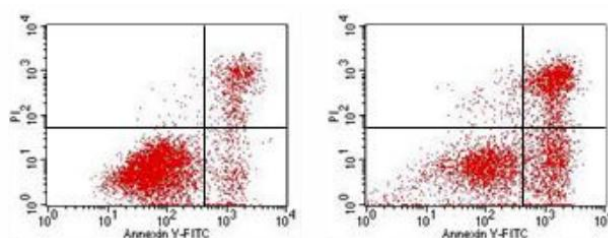
1) 用流式细胞仪检测, 激发波长 Ex=488 nm; 发射波长 Em=530 nm。

2) Annexin V-FITC 的绿色荧光通过 FITC 通道 (FL1) 检测; PI 红色荧光 (流式 Ex=488nm, Em≥630nm) 通过 FL2 或 FL3 通道检测, 建议使用 FL3。

3) 荧光补偿调节: 使用经凋亡诱导处理的正常细胞, 作为对照进行荧光补偿调节去除光谱重叠和设定十字门的位置。

C. 实验范例

用凋亡诱导剂诱导 P388 细胞凋亡, 在 37℃, 5%CO₂ 培养箱培养 4~6h 后, 参照说明书的操作方法进行检测, 经流式细胞仪检测结果见下图。



对照

诱导剂处理



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

注意事项:

- 1、微量试剂取用前请离心收集。
- 2、Annexin V-FITC, Propidium Iodide (PI) 避光保存及使用。
- 3、Propidium Iodide (PI) 有毒, 操作时要戴手套。
- 4、本试剂盒适用于检测活细胞, 流式细胞仪检测时, 细胞数量不应低于 1×10^5 , 不推荐用于检测组织样本。
- 5、推荐使用悬浮培养细胞。如果是贴壁细胞, 需用不含 EDTA 的胰酶消化, 如消化不当, 可能引起假阳性, 而用细胞刮子会造成细胞粘连成团, 而影响检测。可将胰酶消化后细胞的保存在含 2%BSA 的 PBS 中, 防止进一步的损伤。
- 6、细胞固定后可能导致荧光的淬灭, 请不要固定样品。
- 7、因检测细胞的类型、凋亡诱导剂种类、使用的检测仪器不同, 因而流式检测的荧光补偿也不同, 因此建议每次检测均需使用未经凋亡诱导处理的细胞作为对照, 进行荧光补偿的调节。

保存条件:

2-8℃避光保存, 有效期一年。