



Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100T
MCK-0011	Annexin V-FITC	250 μ L $\times$ 2
	Binding Buffer	30 mL $\times$ 2
	PI Stain	550 μ L $\times$ 2
	说明书	1 份

产品简介

Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒采用 FITC 标记的重组人 Annexin V 检测细胞凋亡。在正常细胞中, 磷脂酰丝氨酸(PS)位于细胞膜内侧; 细胞凋亡早期, PS 会外翻到细胞膜外侧。Annexin V (膜联蛋白 V) 是一种 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白, 可与 PS 特异性结合, 因此 Annexin V 常作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。

Annexin V 经 FITC 标记后可发绿色荧光, 利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。此外, 本试剂盒中的碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 染色液是一种不能穿透细胞膜的红色荧光染料, 可对凋亡晚期细胞及坏死细胞染色。经 Annexin V-FITC 和 PI 联合染色后, 正常细胞基本无荧光 (Annexin V-/PI-) 早期凋亡细胞呈绿色荧光 (Annexin V+/PI-), 晚期凋亡细胞及坏死细胞则呈绿色和红色荧光 (Annexin V+/PI+)。

保存条件

-20°C 避光保存, 有效 1 年。避免反复冻融。

注意事项

1. 荧光染料都存在淬灭的问题, 染色后应尽快检测荧光强度, 且整个实验过程尽量避光下进行。
2. 若使用胰酶处理贴壁细胞, 应尽可能地去除胰酶, 防止 Annexin V-FITC 降解从而导致染色失败。
3. 流式细胞仪检测时, 若 Annexin V-FITC 单独染色组出现较多 PI 假阳性细胞, 可用 PBS 将 Annexin V-FITC 稀释 3-10 倍后再进行检测。
4. Annexin V-FITC 和碘化丙啶 (PI) 均对人体有害, 操作时务必小心。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 收集细胞: 收集 $1-5 \times 10^5$ 个细胞。
 - (1) **悬浮细胞:** 1000g 离心 5min, 弃上清。加入 1 mL 预冷的 PBS 轻轻重悬细胞沉淀, 1000g 离心 5 min, 弃上清, 保留细胞沉淀。
 - (2) **贴壁细胞:** 小心吸取细胞培养液保存备用。加入 PBS 洗涤后, 加入适量胰酶消化液 (尽量不含 EDTA, 以免影响 Annexin V 和 PS 的结合) 消化细胞。加入前面收集的培养液, 轻轻吹打细胞, 制成单细胞悬液, 1000 g 离心 5 min, 弃去上清。加入 1 mL 预冷的 PBS 轻轻重悬细胞沉淀, 1000 g 离心 5 min, 弃去上清, 保留细胞沉淀。(注: 建议胰酶消化液不含 EDTA。)
2. 加入 195 μ L Binding Buffer, 轻轻重悬细胞。
3. 加入 5 μ L Annexin V-FITC, 轻轻混匀。
4. 加入 10 μ L PI Stain, 轻轻混匀。
5. 室温下避光孵育 10-20 min。(注: 孵育过程中可轻轻颠倒数次以加强染色效果。)
6. 检测与分析:
 - (1) **流式细胞仪检测:** 用流式细胞仪检测荧光强度。

注: ①流式检测时, Annexin V-FITC 最大激发波长为 488 nm, 最大发射波长为 525 nm, 在 FL1 通道检测; PI-DNA 最大激发波长为 535 nm, 最大发射波长为 617 nm, 在 FL2 或 FL3 通道检测。②建议设置三组对照: 未染色组、PI 单染组及 Annexin V-FITC 单染组。
 - (2) **荧光显微镜检测:** 1000 g 离心 5 min, 弃去上清, 加入 50-100 μ L Binding Buffer 轻轻重悬细胞沉淀, 涂片后用荧光显微镜检测荧光强度。