

AFT Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒

产品名称	单位	货号
AFT Annexin V-FITC/PI kit	50T	AFT2053-01

【储存条件】 4°C 避光保存

【产品概述】

Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒是一种采用Annexin V-FITC 与 PI 双染法进行细胞早期凋亡分析的检测试剂盒。细胞凋亡早期改变发生在细胞膜表面，这些细胞膜表面的改变之一是磷脂酰丝氨酸（PS）从细胞膜内转移到细胞膜外，使 PS 暴露在细胞膜外表面。PS 是一种带负电荷的磷脂，正常主要存在于细胞膜的内面，在细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性被破坏而使 PS 暴露在细胞膜外。Annexin V 具有易于结合到磷脂类如PS 的特性，对 PS 有高度的亲和性。因此，该蛋白可充当一敏感的探针检测暴露在细胞膜表面的 PS。PS 转移到细胞膜外不是凋亡所独特的，也可发生在细胞坏死中。两种细胞死亡方式间的差别是在凋亡的初始阶段细胞膜是完好的，而细胞坏死在其早期阶段细胞膜的完整性就被破坏。另外一种活细胞非透过性荧光染料碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）不能通过完整的活细胞，但能够对坏死和凋亡晚期的细胞进行染色，因此通常将Annexin V与PI配合染色，以区别凋亡早期细胞与坏死细胞和凋亡的晚期细胞。

【产品组分】

	50 T
4x Binding Buffer	10 ml
Propidium Iodide, PI	500 µl
Annexin V-FITC	250 µl

【注意事项】

1. 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
2. 需自备PBS和去离子水。
3. 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
4. PI对人体有刺激性，请注意适当防护。
5. 请穿实验服并戴一次性手套操作。

【操作步骤】

1. 细胞样品的准备:

a. 对于贴壁细胞: 小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用胰酶消化细胞, 至细胞可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时, 加入前面收集的细胞培养液, 吹打下所有的贴壁细胞, 并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000×g左右离心3-5分钟, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞沉淀不充分, 可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约50 μl左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约1 ml 4℃预冷的PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。再次加入1 ml 4℃预冷的PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞。

b. 对于悬浮细胞: 1000×g左右离心3-5分钟, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞沉淀不充分, 可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约50 μl左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约1 ml 4℃预冷的PBS, 重悬细胞, 并转移到1.5毫升离心管内。再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 可以残留约50 μl左右的PBS, 以避免吸走细胞。再次加入1 ml 4℃预冷的PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞。

2. 用去离子水按 1:3 稀释 Binding Buffer (4 ml Binding Buffer +12 ml 去离子水)。

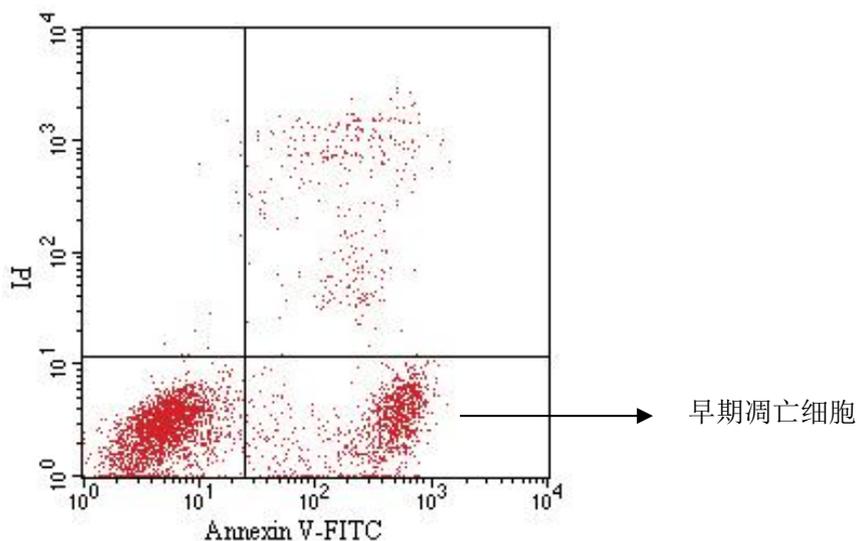
3. 用 250 μl Binding Buffer 重新悬浮细胞, 调节其浓度为 1×10^6 /ml。

4. 取 100 μl 的细胞悬液于 5 ml 流式管中, 加入 5 μl Annexin V/FITC 和 10 μl 20 μg/ml 的 PI 溶液。

5. 混匀后于室温避光孵育 15 分钟。

6. 在反应管中加 400 μl PBS, 流式细胞仪 (FACS) 分析。

【实验图例】



【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。