

Annexin V-FITC / PI 凋亡试剂盒

产品货号: MK1028

产品名称: Annexin V-FITC / PI 凋亡试剂盒

产品批号: 见外包装标签

包装规格: 100ul (20 次实验); 250ul (50 次实验); 500ul (100 次实验)

产品保存: Annexin V-FITC 与 PI 需 4°C 避光储存, Binding Buffer 4°C 储存。一年有效。

产品组份:

组分	MK1028-20 (20 次实验)	MK1028-50 (50 次实验)	MK1028-100 (100 次实验)
Annexin V-FITC	100μL	250μL	500μL
Propidium Iodide(PI)	100μL	250μL	500μL
Binding Buffer	10ml	25ml	50ml

工作原理:

正常细胞中, 磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 位于细胞膜的内侧, 但在早期凋亡细胞中, PS 会从细胞膜的内侧翻转到细胞膜的表面, 暴露在细胞外环境中。Annexin-V (膜联蛋白-V) 是一种分子量为 35-36KD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白, 能与 PS 高亲和力结合。用荧光素 (FITC、Alexa Fluor488 等) 标记的 Annexin-V 作为探针, 利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡的发生; 碘化丙啶(propidine iodide, PI)是一种核酸染料, 它不能透过完整的细胞膜, 但在凋亡中晚期的细胞和死细胞, PI 能够透过细胞膜而将细胞核染红。因此将 Annexin-V 与 PI 结合使用, 就可以检测出细胞群体中的早期凋亡细胞与晚期凋亡细胞

使用方法:

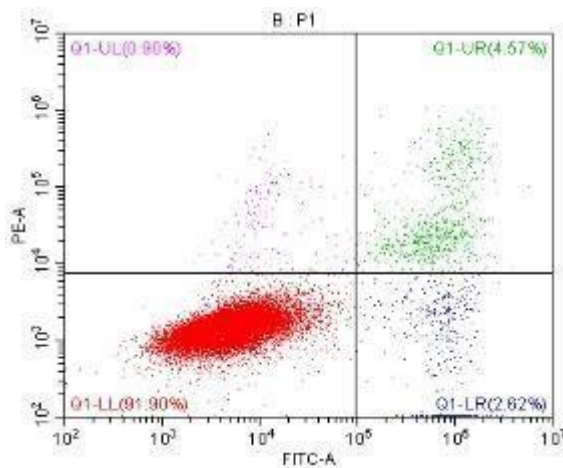
1. 悬浮细胞, 2000rpm 离心 5min 收集细胞; 对于贴壁细胞, 要用不含 EDTA 的胰酶消化细胞, 胰酶消化时间不宜过长或过短(过长细胞膜破碎, 造成假阳性, 过短, 细胞黏连影响检测)最好是在轻轻吹打可以使贴壁细胞吹打下来时, 吸除胰酶消化液, 加入细胞培养液终止消化, 2000rpm 离心 5min 收集细胞。
2. 4°C 预冷 PBS, 洗涤细胞 2 次 (2000rpm × 5min), 收集细胞 $2 \sim 5 \times 10^5$ 。
3. 离心弃上清, 加入 500μL 结合缓冲液, 轻轻吹打重悬细胞。
4. 加入 5μL Annexin V-FITC, 轻轻吹打混匀, 加入 5μL PI 轻轻吹打混匀, 室温避光孵育 5-15min。(PI 染色时间过长有可能造成检测的凋亡率偏高, 时间允许, 可以在检测前 5 分钟加入 PI)。
5. 流式细胞仪检测或荧光显微镜观察。最好在 1h 内检测。

注意事项:

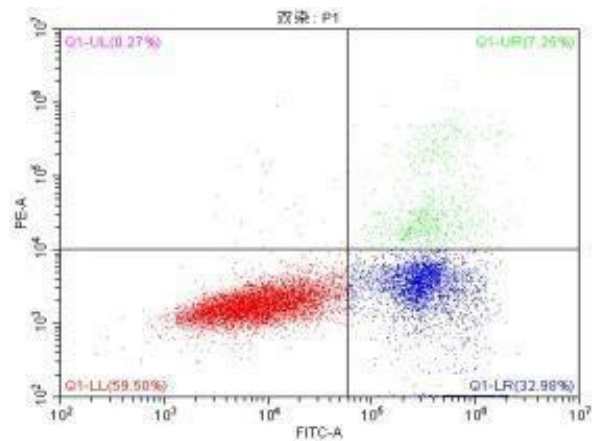
1. Annexin V-FITC 与 PI 量微，请在使用前离心集液。
2. Annexin V-FITC 与 PI 需低温避光储存。
3. PI 有毒，能透过皮肤进入体内，使用时注意必要防护。
4. 本试剂盒适用于细胞样本，不适用于组织检测。
5. 检测细胞不能固定。

实验参考:

凋亡诱导剂处理 JK 细胞，37°C，5% CO₂培养 4h，参照说明书操作，经流式细胞仪检测结果如下：



处理前：正常细胞占比较高，早期凋亡细胞与晚期凋亡细胞较少。



处理后：正常细胞明显减少，早期凋亡细胞明显增加。

(红色部分为正常细胞，蓝色为早期凋亡细胞，绿色为晚期凋亡细胞，品红为坏死细胞)