



Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

版本: 2018/06/06

Annexin V-FITC/PI Apoptosis Assay Kit

Catalog# ZP327

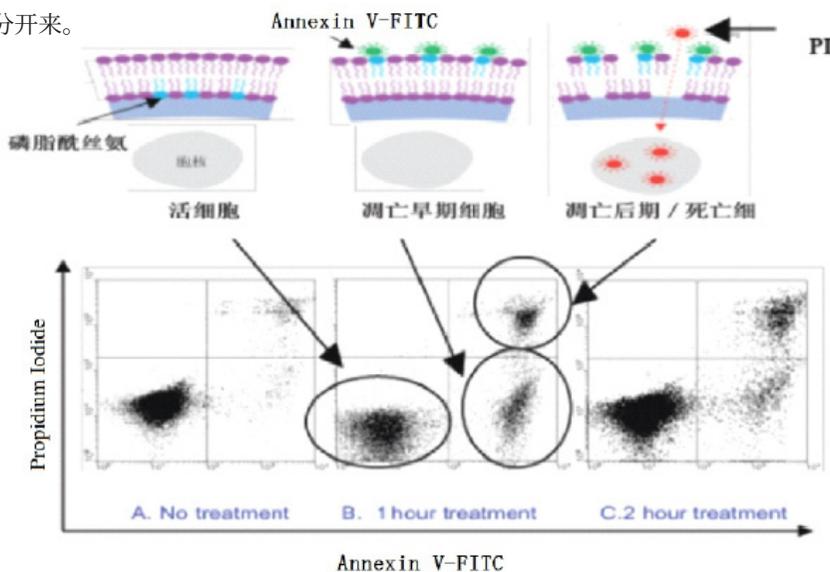
试剂盒组成	50 assays (ZP327-1)
Annexin V-FITC	250 μ l
10 \times Binding Buffer	2*13ml
Propidium Iodide(PI)	500 μ l

Store at 4 $^{\circ}$ C , 一年有效。

产品介绍:

细胞凋亡 (Apoptosis) 是一种由基因控制的细胞自主死亡方式。它与组织器官的发育, 机体正常生理功能的维持, 某些疾病的发生发展以及细胞癌变过程均有着密切的关系。细胞凋亡已成为生命学科极为活跃的研究领域之一。在细胞凋亡的早期, 细胞膜表面的磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 将会从细胞膜内侧转移到细胞膜外侧, 使 PS 充分暴露在细胞膜外表面。Annexin V 是一种磷脂结合蛋白, 对 PS 有高度的亲和力。因此, Annexin V 作为一个敏感的探针可以有效地检测暴露在细胞膜表面的 PS。目前普遍使用的检测方法是将荧光标记后的 Annexin V-FITC 作为探针, 利用流式细胞仪来检测细胞凋亡。

值得注意的是, 在细胞坏死的过程中也会发生 PS 的暴露。但两者的差别在于细胞凋亡的初始阶段细胞膜结构是完好的, 只有 PS 转移, 而细胞坏死则在早期阶段细胞膜的完整性就破坏了, 从而暴漏出 PS。因此, 检测细胞凋亡时, 通常会使用染料碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 以确立细胞膜的完整性。PI 是一种核酸染料, 它可以染色死细胞, 但不能进入完整的活细胞, 从而将凋亡性细胞和坏死性细胞区分开来。





操作步骤:

1、细胞收集与 Annexin V-FITC 结合

(1) 在完成细胞凋亡诱导处理后, 1500rpm, 5 分钟离心后弃上清, 收集细胞。

贴壁细胞收集: 先用 PBS 洗涤贴壁细胞一次, 再用胰酶消化液解离细胞, 1500rpm 离心 5 分钟, 弃上清收集细胞。

(2) 用 PBS 重新悬浮细胞, 并计数。

如用含有 EDTA 胰酶细胞消化液消化细胞, 建议将收集的细胞用 PBS 再洗涤一次。

(3) 取 $1 \sim 5 \times 10^5$ 细胞悬浮液, 1500rpm, 5 分钟离心后弃上清, 加入 500 μ l 的 $1 \times$ Binding Buffer (用蒸馏水 1:9 稀释 $10 \times$ Binding Buffer)。

(4) 加入 5 μ l Annexin V-FITC, 再加入 10 μ l Propidium Iodide, 轻轻混匀。

(5) 在室温下, 避光反应 5 ~ 15 分钟。

(6) 在 1 小时内进行流式细胞仪或荧光显微镜检测。

如需更长时间保存, 细胞可先用 $1 \times$ Binding Buffer 洗涤后再用 2% 甲醛固定, 固定的细胞混匀重悬即可进行检测。

2、流式细胞仪分析

设定: 激发波长 $E_x=488\text{nm}$: 发射波长 $E_m=530\text{nm}$ 。

Annexin V-FITC 的绿色荧光 FITC 通道为 FL1; PI 红色荧光通过 PI 通道为 FL2。

使用未经凋亡诱导的正常细胞作为对照, 进行荧光补偿调节。

3、荧光显微镜观察

(1) 如果用于荧光显微镜下检测, 1500rpm 离心 5 分钟, 收集细胞。用 50-100 μ l $1 \times$ Binding Buffer 轻轻重悬细胞。取一滴细胞悬浮液于载玻片上, 盖玻片观察。

(2) 采用双色滤光片, Annexin V-FITC 荧光呈绿色, PI 荧光呈红色。

注意事项:

1、如果是贴壁细胞, 也可直接用盖玻片培养和诱导细胞凋亡。

2、Propidium Iodide (PI) 有毒, 需戴手套操作使用。

3、本试剂盒适用范围为动物性细胞或组织。植物细胞组织, 植物性海藻等不建议使用。