

# Annexin V-FITC/PI Cell Apoptosis Detection Kit 100T

目录号：ABC1529

## 产品信息

### 产品名称

### 产品编号规格

ABC1529 100T

Annexin V-FITC/PI Cell Apoptosis Detection Kit

## 产品简介

细胞凋亡是发生在胚胎发育和维持组织稳态过程中的正常生理过程，伴随着许多形态学特征改变，其中细胞膜的丢失是细胞凋亡早期的特征之一。在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)只分布在细胞膜磷脂双分子层的内侧，但在细胞凋亡早期，PS会从脂膜的内侧翻转外侧，使其暴露于细胞外侧。Annexin V（膜联蛋白 V）是一种  $Ca^{2+}$  依赖的磷脂结合蛋白，对 PS 具有高度亲和力，会与暴露 PS 的细胞特异性结合，因此 Annexin V 被作为检测细胞早期凋亡的指标之一。碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)是一种核酸染料，它不能透过具有完整细胞膜的正常细胞和早期凋亡细胞，但能透过凋亡晚期和坏死细胞的细胞膜并将细胞核染色。

本产品通过将 Annexin V 用 FITC 进行标记后作为检测探针，检测细胞的早期凋亡。同时以 PI 区分存活的细胞与坏死、晚期凋亡细胞。Annexin V-FITC 和 PI 结合使用，活细胞呈现阴性染色 (Annexin V-/PI-)，早期凋亡细胞呈现单荧光阳性 (Annexin V+/PI-)，而晚期凋亡细胞和坏死细胞呈现双荧光阳性 (Annexin V+/PI+)。本试剂盒适用于流式细胞仪或荧光显微镜检测。

## 储存与运输

冰袋 (wet ice) 运输；2-8°C 避光保存，12 个月有效。

## 组成

Component Number	Component	ABC 1529-50T	ABC 1529-100T
ABC 1529-1	Annexin V-FITC	250 $\mu$ L	2 $\times$ 250 $\mu$ L
ABC 1529-2	Propidium Iodide (PI)	250 $\mu$ L	2 $\times$ 250 $\mu$ L
ABC 1529-3	1 $\times$ Binding Buffer	25 mL	2 $\times$ 25 mL
产品说明书		1 份	

## 操作步骤

1. 悬浮细胞：取细胞悬液，经 500 g，4°C 离心 5 min 收集细胞；

贴壁细胞：先收集细胞培养上清液。然后用不含 EDTA 的胰酶消化后，与细胞培养上清液合并，经 500 g，4°C 离心 5 min 收集细胞。胰酶消化时间不宜过长，以免过度消化引起假阳性。

2. 用预冷的 PBS 清洗细胞 2 次，每次 500 g、4°C 离心 5 min 收集细胞；

3. 用预冷的 1 $\times$ Binding Buffer 轻柔重悬细胞，调整细胞浓度至 1 $\sim$ 5 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL；

4. 取 100  $\mu$ L 细胞悬液，加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ L PI，轻柔混匀，室温避光 8-10 min；

5. 加入 400  $\mu$ L 预冷的 1 $\times$ Binding Buffer，轻轻摇匀，1 h 内用流式细胞仪或者荧光显微镜进行检测。

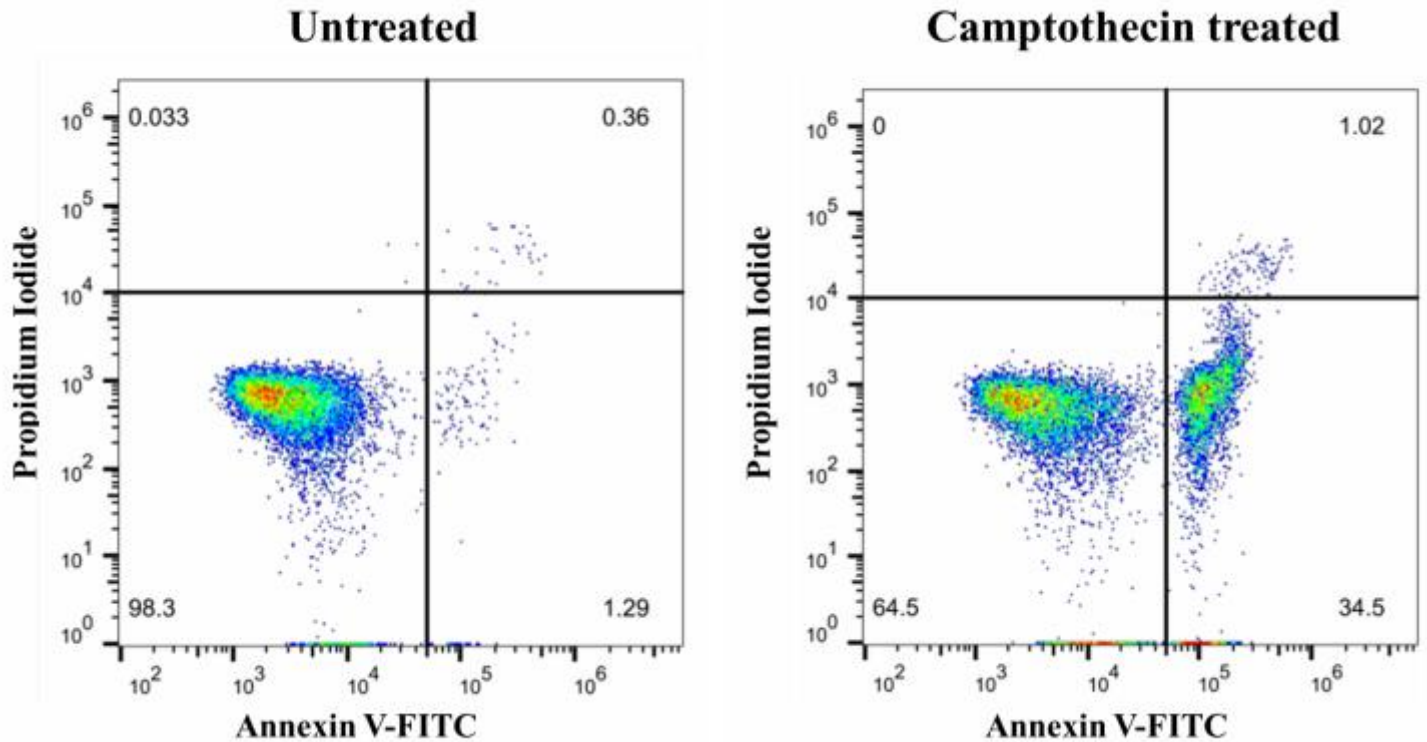
## 结果分析

### 1. 流式细胞仪检测

a. 流式细胞仪检测分析时选择合适的电压并调好光补偿，除实验组外建议设置阴性对照（不加 Annexin V-FITC 和 PI 标记）用于调节电压，单标对照（只加 Annexin V-FITC，以及只加 PI 的细胞）用于调节补偿；；

b. 流式细胞仪检测分析参考实例：

用 5  $\mu$ M Camptothecin 诱导 Jurkat T 淋巴瘤细胞 6 h，参照以上实验步骤，用流式细胞仪进行检测，结果如下图所示。



FITC 最大激发波长为 488 nm，最大发射波长为 525 nm；PI-DNA 复合物的最大激发波长为 535 nm，最大发射波长为 615 nm。经流式细胞仪相关分析软件绘制双色散点图，FITC 位于横坐标，PI 位于纵坐标。在典型实验中，活细胞无荧光，散点位于左下第一象限。处于早期凋亡细胞有较强的绿色荧光，散点位于右下第二象限。晚期凋亡细胞、坏死细胞呈现红色、绿色双重荧光，散点位于右上第三象限。

## 2. 荧光显微镜检测

在载玻片上加 5-10  $\mu\text{L}$  经 Annexin V-FITC 和 PI 双染的细胞悬液，盖上盖玻片，在荧光显微镜下用双色滤光片进行观察，Annexin V-FITC 呈绿色荧光信号，PI 呈红色荧光信号。

### 注意事项

1. 整个实验过程操作应尽量轻柔避免细胞破碎，影响实验结果。
2. 用 PBS 清洗细胞不可省略，同时也要尽可能的去掉残留的 PBS。
3. 使用胰酶消化细胞时，应小心操作，避免人为损伤细胞，并控制消化时间。消化时间过短，细胞需用力吹打才能脱落，容易造成细胞膜的机械损伤；若消化时间过长，细胞膜同样容易受到损伤。影响检测结果。另外不能使用含 EDTA 的胰酶，EDTA 会影响 Annexin V 与 PS 的结合。
4. 贴壁细胞经凋亡刺激后，如有部分细胞漂浮，需同时收集细胞培养上清液及贴壁细胞合并染色，会使得结果更加准确。
5. Annexin V-FITC 和 PI 对光敏感，操作时注意避光。反应结束后应尽快进行检测。
6. 实验过程中请穿实验服并戴一次性手套，避免污染，确保安全。

本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！

**Annexin V-FITC/PI Cell Apoptosis Detection Kit 100T**

**目录号 : ABC1529**



(产品包装升级中，以实物为准。)