

ANNEXIN V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒说明书

注意：本产品试剂浓度发生变化，使用前请仔细阅读说明书。

货号：CA1020

规格：20T/50T/100T

保存：贮存于 2-8°C，复检期为一年。

产品内容:	CA1020-20	CA1020-50	CA1020-100	保存
Annexin V-FITC	100μl	250μl	500μl	4°C，避光，不要冷冻
Propidium iodide(PI)	100μl	250μl	500μl	4°C，避光，不要冷冻
Binding Buffer (10×)	6ml	15ml	30ml	4°C 保存，长时间-20°C

产品说明：

细胞凋亡是细胞的基本特征之一，在机体的胚胎发育、组织修复、内环境的稳定等方面都起到十分重要的作用。Annexin V 是一种分子量为 35.8 KD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白，能与细胞凋亡过程中翻转到膜外的磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 高亲和力特异结合。FITC-Annexin V 结合到凋亡细胞后，在蓝色光的激发下，发出绿色荧光，区分出凋亡细胞与正常细胞。碘化丙啶 (Propidium iodide, PI) 是一种核酸染料，它不能穿透完整细胞膜，但对凋亡晚期细胞和死细胞的破损细胞膜能够穿透，并使细胞核红染。将 FITC-Annexin V 与 PI 匹配使用，可以将凋亡早期的细胞和晚期的细胞区分开来。

操作步骤：

- 1、用 27ml 的去离子水稀释 3ml Binding Buffer (10×) 至 30ml，每次用 3ml。
- 2、收集细胞 (1×10^6 个/次)，然后用冷的 PBS 洗涤。(对于贴壁细胞，先用胰酶消化，再用 PBS 洗涤)。
- 3、用 1ml 1×的 Binding Buffer 悬浮细胞， $300 \times g$ 离心 10min，弃上清。
- 4、用 1ml 1×的 Binding Buffer 重悬细胞，使细胞的密度达到 1×10^6 个/ml。
- 5、每管加入 100μL 细胞 (1×10^5 个)。
- 6、再向管中加入 5μL Annexin V-FITC。
- 7、室温，避光，轻轻地混匀，10min。
- 8、加入 5μL PI，室温，避光，孵育 5min。
- 9、加入 PBS 至 500μL，轻轻混匀。
- 10、在 1 小时内用流式细胞仪检测。

注意事项：

- 1、旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
- 2、Annexin V-FITC 和 Propidium iodide 是光敏物质，在保存与操作时请注意避光。
- 3、Propidium iodide (PI) 能通过皮肤吸收，对眼睛有刺激作用。
- 4、在细胞洗涤的最后一步，请尽量将上清弃净，以免 PBS 残留影响实验结果。

5、PI 染色时间过长有可能造成检测的凋亡率偏高，建议首先进行 Annexin V-FITC 染色，上机前 5 分钟再加入 PI 染色。

6、整个操作过程动作要尽量轻柔，勿用力吹打细胞，尽量在 4℃ 下操作。

7、反应完毕后请尽快检测，因为细胞凋亡是一个动态的过程，反应 1 小时后荧光强度就开始衰变。

8、成功的检测凋亡受以下几种因素的影响，如细胞类型、细胞膜上 PS 的密度、发生凋亡时 PS 翻转的比例、诱导细胞凋亡的方法、所用试剂、诱导凋亡的时间等，把这些影响因素进行优化对实验成功是非常必要的。

此试剂盒仅供科研使用。

相关产品：

P1020 1×PBS , PH7.2-7.4 , 0.01M

T1300 胰蛋白酶 - EDTA 消化液(0.25%) 不含酚红

T1350 胰蛋白酶消化液(0.25%) 不含酚红

24800 通用细胞冻存液

12100 DMEM(H)

31800 RPMI Medium 1640

CA1040 一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(FITC)

S1056 细胞凋亡荧光 Hoechst 33342-PI 双染试剂盒