

Annexin V-FITC /PI 凋亡试剂盒

产品编号： MK1028

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

保存条件： Annexin V-FITC 与 PI 需 4℃避光储存，一年有效；Binding Buffer，4℃储存。

保存期： 一年。

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(propidium 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。

试剂盒组份：

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

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℃预冷 PBS，洗涤细胞 2 次（2000rpm \times 5min），收集细胞 $2\sim 5\times 10^5$ 。

3.离心弃上清，加入 500 μ L 结合缓冲液，轻轻吹打重悬细胞。

4.加入 5 μ L Annexin V-FITC，轻轻吹打混匀，加入 5 μ L 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)。

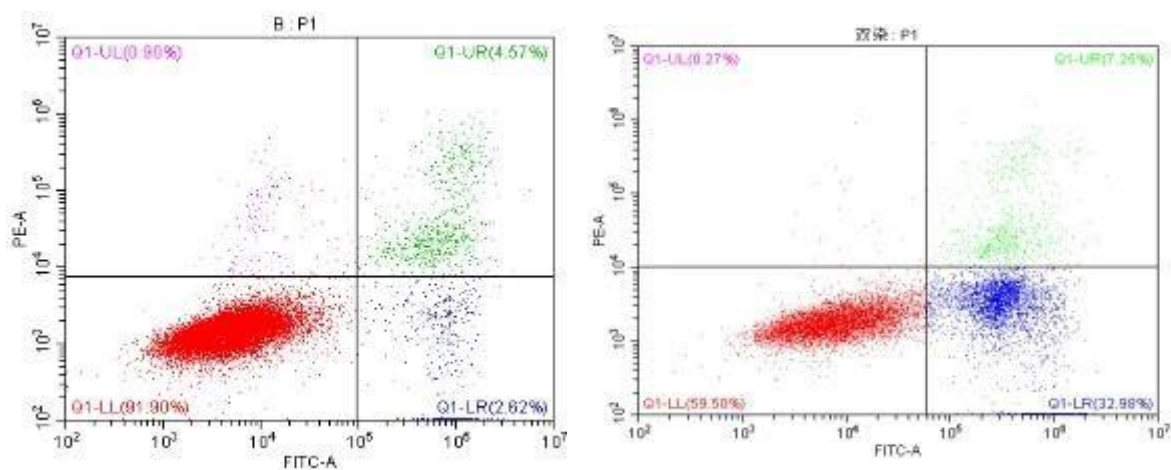
5.流式细胞仪检测或荧光显微镜观察。最好在 1h 内检测。

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）