

Annexin V-FITC / PI细胞凋亡检测试剂盒

5T WLA001 20T WLA001a 50T WLA001b 100T WLA001c



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 Annexin V-FITC / PI细胞凋亡检测试剂盒

产品概述 Annexin V是一种分子量为35kDa的Ca²⁺依赖性磷脂结合蛋白,能够特异性结合磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)。磷脂酰丝氨酸主要分布在细胞膜内侧,当细胞发生凋亡时,细胞会把磷脂酰丝氨酸外翻到细胞表面,即细胞膜外侧。FITC标记的Annexin V探针,即Annexin V-FITC,能够特异性的结合这些外翻的磷脂酰丝氨酸,通过流式细胞仪或荧光显微镜非常简单而直接地检测到细胞发生凋亡的情况。
碘化丙啶(Propidium Iodide, PI),是一种核酸染料,它不能通过正常细胞膜,当细胞处于坏死或凋亡中晚期状态下,细胞丧失膜完整性,碘化丙啶进入细胞内部,与细胞核内的核酸发生结合,通过流式细胞仪或荧光显微镜检测,反映细胞膜完整状态的信息。故将Annexin V-FITC与PI联合使用,将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

包装信息

| 试剂名称 | WLA001 (5T) | WLA001a (20T) | WLA001b (50T) | WLA001c (100T) | 保存条件 |
|------------------|-------------|---------------|---------------|----------------|-------|
| Annexin V-FITC | 25µl | 100µl | 250µl | 500µl | 4°C避光 |
| Propidium Iodide | 50µl | 200µl | 500µl | 1000µl | 4°C避光 |
| Binding buffer | 2.5ml | 10ml | 25ml | 50ml | 4°C |

保存条件 4°C避光保存,六个月有效。如果长期不用,可以-20°C保存。

- 注意事项**
1. Annexin V-FITC、Propidium Iodide (PI) 需避光保存,其中Annexin V-FITC长期不用(2个月以上)请分装后保存于-20°C,避免反复冻融;
 2. Propidium Iodide (PI) 为有毒试剂,操作时需佩戴手套;
 3. 所有试剂使用前均需短暂离心,防止液体挂壁导致试剂量不足;
 4. 检测样品为贴壁细胞时,需去除残留胰酶,胰酶会酶解Annexin V导致染色失败;
 5. 由于检测细胞种类、诱导剂类型、仪器型号等差异,各试剂组份使用量可在推荐用量的基础上做适当优化,以取得更好的实验结果;
 6. 本试剂盒适用于检测细胞样本,不推荐用于组织样本的检测,固定后的样本不能用于检测;
 7. 流式细胞仪检测凋亡时,每次独立实验需制作未处理细胞的Annexin V-FITC单阳性管、Propidium Iodide (PI) 单阳性管,用于荧光补偿调节。

操作流程

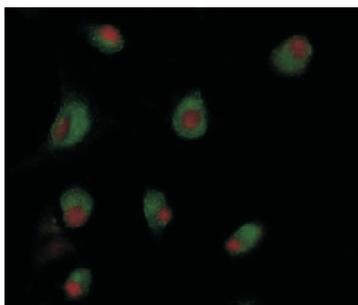
对于流式细胞仪检测:

1. 悬浮细胞直接离心(1500rpm, 5min)收集;贴壁细胞用胰蛋白酶(含EDTA)消化,消化时间不宜过长,加入完全培养基终止反应;
2. PBS漂洗细胞两次,并进行细胞计数,离心(1500rpm, 5min)收集1~5×10⁵个细胞;
3. 加入500µl Binding buffer重悬细胞;
4. 加入5µl Annexin V-FITC混匀后,加入10µl Propidium Iodide混匀,室温避光反应5-15min;
5. 请在1h内用流式细胞仪检测,Annexin V-FITC荧光信号通过FL1通道检测,Propidium Iodide荧光信号通过FL2或FL3通道检测;
6. 每次检测需要同时检测Annexin V-FITC单阳性管、Propidium Iodide (PI) 单阳性管,用于确定荧光补偿数值及十字象限门的位置。

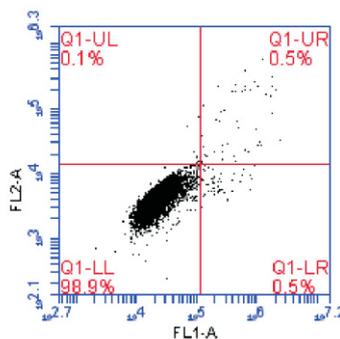
对于荧光显微镜原位观察:

7. 对于悬浮细胞,可将步骤4所得细胞直接涂片进行荧光显微镜观察;
8. 对于贴壁细胞,可将细胞接种于24/48/96孔细胞培养板内,凋亡处理结束后,用PBS漂洗两遍;
9. 加入配好的凋亡染色液(250µl Binding buffer, 5-10µl Annexin V-FITC, 10µl Propidium Iodide, 混匀)室温避光孵育15min, 24/48/96孔细胞培养板各需250/100/50µl上述染色液,随即进行荧光显微镜观察;
10. Annexin V-FITC激发波长488nm,发射波长530nm呈绿色荧光;Propidium Iodide激发波长488nm,发射波长630nm呈红色荧光。

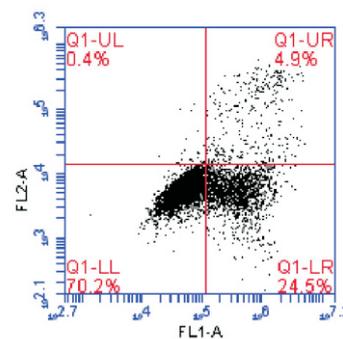
产品图片



A549细胞用4µM顺铂处理16h的荧光图



HepG2细胞未处理



HepG2细胞用2.5µM顺铂处理24h