

FITC-Annexin V /PI 细胞凋亡检测试剂盒

使用说明

一、样品染色：

细胞处理：

1. 悬浮细胞：800 g 4℃ 离心 5 min 收集细胞沉淀；随后 PBS 洗涤细胞两遍。
2. 贴壁细胞：用不含 EDTA 胰酶消化，800g 4℃ 离心 5 min 收集细胞沉淀，用预冷的 PBS 洗涤两遍，每个样本收集 $1\sim5 \times 10^5$ 个细胞。**(注意：操作过程中轻柔吹打细胞，消化时间不宜过长，剧烈吹打或胰酶消化过度会损伤细胞产生假阳性结果)。**

染色：

1. 所收集的细胞沉淀，加入 100 μ L 1X Binding buffer 重悬细胞。
2. 加入 5 μ L FITC-Annexin V 和 5 μ L PI，轻轻混匀，室温避光孵育 15min。
3. 待孵育完成后，加入 400 μ L 1X Binding buffer 混匀并置于冰上，1 h 内完成流式细胞仪或荧光显微镜检测分析。

二、贴壁细胞原位检测：

1. 贴壁细胞接种于 12 或 24 孔板中，经药物处理适当时间后，吸去培养液，用 PBS 洗涤细胞一遍；
2. 加入 500 μ L 1x Binding Buffer；
3. 加入 5 μ L FITC-Annexin V 轻轻混匀；
4. 加入 5 μ L PI 染色液并混匀；
5. 室温染色 10-20 min 后，将平板置于冰板上，于荧光显微镜或激光共聚焦下进行成像检测。细胞在染色后应在 1 h 之内完成检测。

三、样品分析：

1. 流式细胞仪分析：

FITC 最大激发波长为 488 nm，最大发射波长 525 nm，FITC-Annexin V 的绿色荧光在 FL1 通道检测；PI-DNA 复合物的最大激发波长为 535 nm，最大发射波长为 615 nm，因此 PI 的染色荧光在 FL2 或 FL3 通道检测。

2. 荧光显微镜分析：

- 1) 将经 FITC-Annexin V/PI 双染的细胞悬液滴于载玻片上，并盖上盖玻片。

【注】：对于贴壁细胞，可直接用盖玻片培养细胞并诱导细胞凋亡，无需胰酶消化而进行染色。

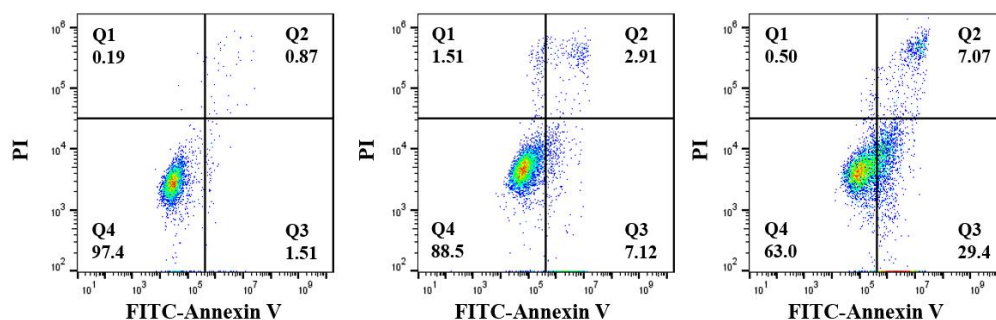
- 2) 在荧光显微镜下用双色滤光片观察。FITC-Annexin V 荧光信号呈绿色，PI 荧光信号呈红色。
- 3) 激光共聚焦检测波长 FITC-Annexin V 激发波长选 FITC 通道；PI 检测激发波长可使用 561nm。

注意事项

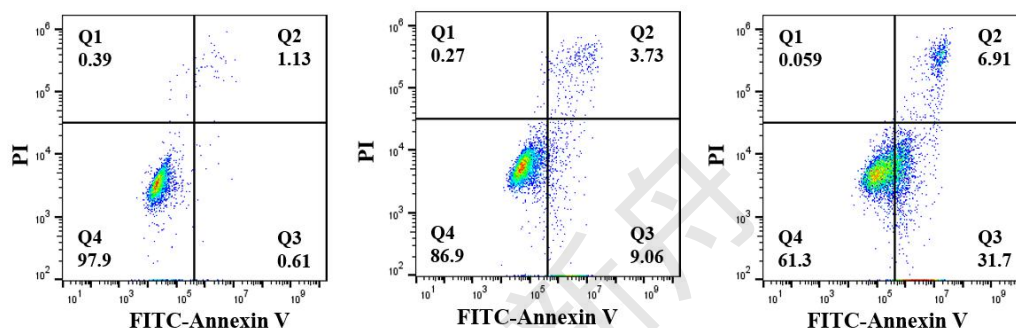
1. 此试剂盒仅供科研使用。
2. 使用前小心离心数秒取用，需佩戴手套操作，注意避免与皮肤、眼睛和黏膜接触。
3. 本试剂盒可用检测活细胞凋亡状态，适用于流式和荧光显微镜检测，请不要固定样品，染色完成后 1 h 内完成检测。

流式分析实验范例：

使用本试剂盒检测顺铂处理 Hela 细胞 48 h 后的细胞凋亡情况分析（从左到右依次为 Control, Cis 5 μ M, Cis 10 μ M），按试剂盒说明书步骤进行 FITC-Annexin V/PI 染色，并立即进行流式检测。



国外 B 品牌同类产品



中乔新舟产品实验结果

原位成像实验范例：

下图为顺铂（10 μ M）处理 Hela 细胞 48 h 后，使用本试剂盒对细胞凋亡情况进行原位染色后激光共聚焦成像结果。

