

Annexin V-FITC/PI Apoptosis kit

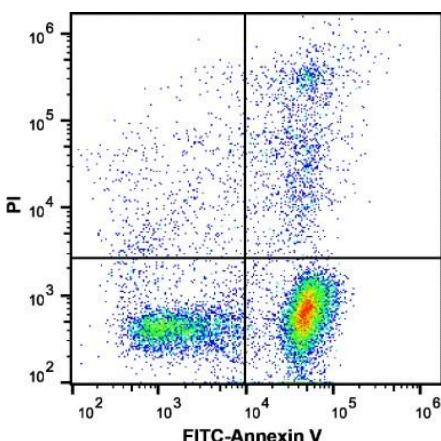
Cat:APAP-100; APAP-50

背景简介

磷脂酰丝氨酸 (PS) 在正常活细胞存在于细胞膜的内侧，细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性发生改变，PS 外翻至细胞膜外。PS 外翻也可发生在细胞坏死。凋亡与坏死这两种细胞死亡方式的差别是在凋亡的早期阶段其细胞膜是完整的，而坏死一旦发生其细胞膜的完整性就丧失了。因此，可以采用 Annexin V 与 PI 双染的方法，通过流式细胞仪检测细胞早期凋亡。

试剂盒组分

	APAP-50 Test		APAP-100 Test	
	Cat	规格	Cat	规格
Annexin V-FITC	AV-50	250μL	AV-100	500μL
PI	PI-50	500μL	PI-100	1000μL
5 × Binding buffer	BB01	8 mL	BB02	15 mL
Apoptosis Positive Control Solution	APCS01	5 mL	APCS01	5 mL



仪器参数调节

- ① 收集 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞，用预冷 PBS 离心洗涤，弃上清。
 - ② 加入 500 μL APCS 重悬，4 摄氏度孵育 10 分钟。
 - ③ 用预冷 PBS 离心洗涤，弃上清。
 - ④ 加入数量相同且未经处理的活细胞与之混合，加入预冷 1× Binding Buffer 补充至 1.5 mL，等分成三管，其中一管为空白对照管、两管为单染管。
 - ⑤ 单染管分别加入 5 μL Annexin V 或 10 μL PI，4 摄氏度避光孵育 10 分钟。
 - ⑥ 在流式细胞仪上，用空白管调节 FSC、SSC 和荧光通道的电压，并在此电压条件下，用单染管调节荧光通道的补偿。
- 注：**某些将贴壁细胞处理为单个细胞的过程中会造成细胞膜损伤，从而造成 Annexin V 假阳性。因此需要使用对细胞更温和的酶如 Accutase。

使用方法

- ① 按实验方案诱导凋亡。
- ② 用遇冷的 PBS 离心洗涤，收集 $1 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞，加入 500 μL 1× 预冷 Binding Buffer 重悬细胞（用双蒸水或去离子水稀释 5× Binding Buffer 为 1× 工作液，4 摄氏度预冷）。
- ③ 每管加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI。
- ④ 轻柔涡旋混匀后，4 摄氏度避光孵育 10 分钟。
- ⑤ **流式分析：**在流式细胞仪上，通过 FITC 检测通道检测 Annexin V-FITC (Ex = 488 nm; Em = 530 nm) 和通过 PI 检测通道检测 PI (Ex = 488 nm; Em = 615 nm)。