



## 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒

版本号: V1.0-202206

### 一、产品规格

产品组成	BLCK075-50T
细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒	50T
说明书	1 份

### 二、产品情况

细胞凋亡早期改变发生在细胞膜表面，这些细胞膜表面的改变之一是磷脂酰丝氨酸 (PS) 从细胞膜内转移到细胞膜外，使 PS 暴露在细胞膜外表面。PS 是一种带负电荷的磷脂，正常主要存在于细胞膜的内面，在细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性被破坏而使 PS 暴露在细胞膜外。Annexin V 具有易于结合到磷脂类如 PS 的特性，对 PS 有高度的亲和性。因此，该蛋白可充当一敏感的探针检测暴露在细胞膜表面的 PS。PS 转移到细胞膜外不是凋亡所独特的，也可发生在细胞坏死中。两种细胞死亡方式间的差别是在凋亡的初始阶段细胞膜是完好的，而细胞坏死在其早期阶段细胞膜的完整性就破坏了。PI 是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，而早期凋亡细胞的细胞膜是完好的，对 PI 有拒染性。但在凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI 能透过细胞膜而使细胞核染上。因此，可以采用 Annexin V 与 PI 双染的方法，通过流式检测细胞早期凋亡。

### 三、储存运输

2-8℃避光保存，一年有效。

### 四、注意事项

1. 包括漂浮在培养基上的细胞，一起收集。
2. 洗细胞后，建议轻轻摇匀细胞沉淀，避免使用加液枪，以免由于塑料枪头的使用造成细胞损失。
3. 一次检测很多样本，加入 PI 应该有一定的时间间隔（一般以 30~60s 为宜），因为 PI 本身有毒。
4. 为了您的健康安全，请穿戴实验服且佩戴一次性手套进行操作。

### 五、使用方法

1. 细胞样品的准备：

a) 对于贴壁细胞：小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用不含 EDTA 的胰酶消化细胞，至细胞可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时，加入前面收集的细胞培养液，吹打下所有的贴



壁细胞，并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000rpm 左右离心 5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞无法完全离心至离心管底，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50 $\mu$ L 左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约 1mL 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清。

b) 对于悬浮细胞：1000rpm 左右离心 5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞无法完全离心至离心管底，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50 $\mu$ L 左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约 1mL 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清。

2. 用去离子水按 1:9 稀释 Binding Buffer (2mL 10x Binding Buffer+18mL 去离子水)；
3. 用 1x 结合缓冲液重新悬浮细胞，调节其浓度为  $1-5 \times 10^6$ /mL；
4. 取 100 $\mu$ L 的细胞悬液于 5ml 流式管中，加入 5 $\mu$ L Annexin V/FITC 混匀后于室温避光孵育 5 分钟；
5. 加入 5 $\mu$ L 的碘化丙锭溶液(PI)，并加 400 $\mu$ L PBS，立刻进行流式或荧光显微镜检测。

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断！