

流式细胞凋亡检测SOP

1. 主要仪器

表1 实验所用主要仪器

| 所用仪器 | 仪器型号 | 公司 |
|---------------------|-------------|------------|
| 分析型流式细胞仪 | CytExpert | Beckman |
| 冷冻离心机 | neofuge 15R | Heal force |
| CO ₂ 培养箱 | HF90 | Heal Force |
| 倒置相差显微镜 | IX71 | Olympus |
| 生物安全柜 | HF-1200LC | Heal Force |
| 电热恒温水浴锅 | HH-US-A | 美标 |

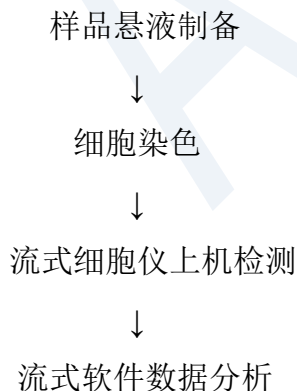
2. 主要试剂

表2 主要试剂及其生产公司

| 试剂名称 | 货号 | 生产公司 |
|-----------|-------------|---------|
| DMEM | SH30243.01B | Hyclone |
| 胎牛血清 | SH30084.03 | Hyclone |
| PBS | C10010500BT | Life |
| 细胞凋亡检测试剂盒 | AD10 | 东仁化学 |

3. 实验内容

3.1 实验流程



3.2 实验操作

3.2.1 试剂准备

细胞凋亡检测试剂盒包含Annexin V-FITC Conjugate、PI solution、10x Annexin V Binding Solution。用去离子水将10x Annexin V Binding Solution配制成1x Annexin V Binding Solution 备用。

3.2.2 实验步骤

- (1) 吸取培养皿或培养板中的上清液转移至微型管中保存。
- (2) 用PBS洗细胞2次，收集清洗液保存。
- (3) 用0.25%胰蛋白酶消化细胞（不含EDTA），37度，2~3min。
- (4) 用适量的培养基或PBS将细胞悬液转移至离心管中，将第一步的上清液和第二步的清洗液一并加入。
- (5) 1000rpm 离心5 min，弃上清。
- (6) 加入PBS后1000rpm 离心5 min，弃上清。重复本步操作一遍。
- (7) 加入预先配好的1×Annexin V Binding Solution，制成终浓度为 1×10^6 cells/ml的细胞悬液。
- (8) 取100ul步骤7中的细胞悬液，加入到新的tube中。
- (9) 向细胞悬液中加入5ul Annexin V-FITC结合物，避光室温孵育10min。再加入5ul 的 PI，室温下避光孵育10min。
- (10) 加入400ul 1×Annexin V Binding Solution，在1h 内检测。

The end



• 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白·抗体·噬菌体文库·诊断原料

武汉国家生物产业基地·光谷抗体发现与筛选公共服务平台