



细胞健康流式检测指南

· 细胞周期检测 · 细胞凋亡检测 · 死活细胞检测



版本：2026.06



www.ptgcn.com



搜索一下

CONTENTS

目 录

一、公司介绍	2
二、重组流式抗体介绍	4
三、细胞周期检测	6
四、细胞凋亡检测	7
1. Annexin V 和 PI 法检测细胞凋亡	7
2. TUNEL 法检测细胞凋亡	8
五、死活细胞鉴定	10
六、流式实验试剂目录	12

Proteintech 公司介绍

Proteintech 于 2001 年在美国芝加哥创立，是一家深度服务于生命科学研究及医学诊断领域的生物公司。其全球四大研发生产中心可提供抗体、重组蛋白、ELISA 试剂盒、实验试剂及高品质 CRO 技术服务；目前已获得 10000+ 企业及科研院所的认可，高效助力全球生命科学及医学诊断领域取得突破性成果。

免疫学研究生物试剂



抗体

- 兔多抗 / 重组兔单抗 / 小鼠单抗
- 羊驼纳米抗体 / 修饰性抗体 / 抗体组合
- 直标抗体 / 中和抗体 / GMP 级抗体
- 重组二抗 / 病理抗体 / 大包装功能级抗体



重组流式抗体

- Fc 沉默重组流抗 / 传统骨架重组流抗
- 高引用克隆 / 全新克隆重组化流式抗体
- 纳米流式 / 单链抗体 scFv
- 猴应用重组流抗 / 稀有种属重组流抗



试剂盒

- Speedy™ 一步法 ELISA 试剂盒
- 传统 ELISA 试剂盒 / 抗体对套装
- 配对抗体对 (PBS-Only)
- 多因子 CBA 检测试剂盒
- Active Motif® 表观研究试剂盒



重组蛋白

- Humankine® 天然活性蛋白
- HEK293/CHO 表达真核重组蛋白
- E.coli 表达重组蛋白
- Active Motif® 表观药物开发重组蛋白



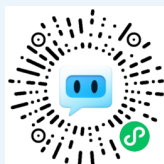
实验试剂

- WB/IP/IHC/IF/FC 等实验全套试剂
- 血清 / 培养基 / 冻存液 / 细胞活性检测
- 抗体偶联试剂盒 / 小分子化合物



CAR 检测试剂

- G4S 及 Whitlow/218 Linker 重组抗体
- 靶标特异性 CAR 检测重组蛋白
- In vivo CAR 相关单链抗体 scFv



行业首发：Able 生物科研智能体

2025 年 9 月，Proteintech 在官网上线 AI 助手 Able，帮助研究人员解决从海量抗体库中筛选合适产品并优化实验方案的难题。



行业首家：3D 抗原表位图谱

2025 年 3 月，Proteintech 在官网上线 3D 抗原表位图谱 (3D Epitope Mapping)，助力从基础科学研究到临床药物开发的各个阶段。

文献口碑

产品超过 50 万次 SCI 文献引用；1800 余次荣登顶尖期刊封面



2026年Proteintech荣获
“研究者之选”奖



2025年Proteintech荣获
“研究者之选”奖



2024年Proteintech荣获
“研究者之选”奖提名



2022年Proteintech荣获
“研究者之选”奖



2019年Proteintech荣获
“免疫学-明日之星”奖



2016年Proteintech荣获
“最佳抗体验证开拓”奖

全球三大研发中心



美国

芝加哥研发生产中心



中国

武汉研发生产中心



德国

慕尼黑研发生产中心

CRO 技术服务

全人源抗体开发

- 人单个 B 细胞和浆 B 细胞抗体发现
- 传染疾病等人类疾病相关抗体发现
- 合作抗体开发

抗体药物开发

- 小鼠和兔抗体发现平台
- TCRm 抗体 | 抗体片段 | 抗体人源化等
- 表位作图 | 亲和力成熟 | 定点偶联等

诊断及研究抗体开发

- 兔和羊抗体发现平台
- 小分子抗体 | 修饰性抗体 | 抗独特型抗体
- 抗体对 | IHC、WB、IF、FC 抗体

抗体规模化生产

- 高通量重组抗体生产
- 大规模重组抗体生产
- GMP 级别抗体生产

营销网络覆盖全球快速响应

- 六大分公司及库存基地
- 提供产品定制服务
- 1-3天到货周期
- 专业技术支持

全球10000+企业及院所的认可

- 生物技术公司
- 体外诊断公司
- 创新药公司
- 疫苗公司
- 生物试剂公司
- CXO公司
- 医美及化妆品公司
- 科研院所

质量管理体系认证

GMP 级别细胞因子及抗体：
严格执行 GMP 标准及
GMP 质量管理体系



ISO 9001



ISO 13485



重组流式抗体是基于 Proteintech 基于 ABCE™ 单个 B 细胞抗体发现平台开发出来的创新型产品，可提供 Fc 沉默和生物定点标记技术的 FcZero-rAb® 系列新型骨架以及 Uni-rAb™ 系列传统骨架重组流抗，同时可提供多种克隆类型，如高引用克隆重组化和全新克隆，覆盖更多靶点。另外，Proteintech 还提供用于纳米流式检测的单链抗体。

- ✔ 重组技术生产
- ✔ 大量稳定供应
- ✔ 靶标多样，改造灵活
- ✔ 可提供仅含 PBS 的抗体

1. 重组流式抗体产品类型丰富

1)	FcZero-rAb® 重组流式抗体	Fc 沉默及生物定点定量标记双重技术
2)	Uni-rAb™ 重组流式抗体	覆盖靶标丰富，类型多样
3)	高引用克隆重组化流式抗体	高引用克隆抗原结合区与小鼠 IgG2a 等骨架重组
4)	全新克隆重组化流式抗体	更多新靶点，统一免抗骨架等，同型对照选择简便
5)	非人灵长类动物重组流式抗体	经过食蟹猴样本验证
6)	稀有物种重组流式抗体	猪、犬、猫、羊等
7)	磷酸化蛋白检测流式抗体	经过内源性流式实验充分验证
8)	单链抗体 scFv	适用于纳米流式检测 / in vivo CAR
9)	羊驼纳米重组流式抗体	针对肿瘤免疫靶点的荧光染料偶联纳米抗体 VHH

2. 重组流式抗体已经覆盖常用免疫细胞分型标志物（持续上新）

细胞类型 / 分类	人	小鼠
白细胞	CD45	CD45
造血干细胞	CD34, Lin(-), CD38(-), CD90	Lin(-), CD48(-), CD150, Sca-1, CD117
B 细胞	CD19, CD20	CD19, CD45R(B220)
T 细胞	CD3	CD3
活化 T 细胞	CD3, CD25, CD69	CD3, CD25, CD69
辅助性 T 细胞	CD3, CD4	CD3, CD4
Th1 细胞	CD3, CD4, IFN-γ	CD3, CD4, IFN-γ
Th2 细胞	CD3, CD4, IL-4	CD3, CD4, IL-4
Th9 细胞	CD3, CD4, IL-9	CD3, CD4, IL-9
Th17 细胞	CD3, CD4, IL-17	CD3, CD4, IL-17
Th22 细胞	CD3, CD4, IL-22	CD3, CD4, IL-22
调节性 T 细胞	CD3, CD4, CD25, Foxp3, CD127(low/-)	CD3, CD4, CD25, Foxp3
细胞毒性 T 细胞	CD3, CD8	CD3, CD8
树突状细胞	CD1c, CD83, CD141, CD209, MHC class II	CD11c, MHC class II
浆细胞样树突细胞	CD123, CD303, CD304	CD11c(int), CD317
自然杀伤细胞	CD16, CD56	NKp46, NK1.1(限品系), CD49b
单核细胞	CD14, CD16, CD64	CD11b, CD115, Ly-6C, Ly-6G(-)
巨噬细胞	CD14, CD68	CD11b, F4/80, CD68
M1 型巨噬细胞	CD80, CD86	CD80, CD86
M2 型巨噬细胞	CD163, CD206	CD163, CD206
巨核细胞 / 血小板	CD42b, CD62P	CD41, CD62P
红细胞	CD235a	TER-119
中性粒细胞	CD11b, CD15, CD16	CD11b, Ly-6G, Gr-1, CD115(-), Ly-6C(low/-)
嗜碱性粒细胞	2D7 antigen, CD117(-), CD123, CD203c, FcεR1a	CD200R3, FcεR1a
嗜酸性粒细胞	CD11b, CD193, EMR1, Siglec-8	CD11b, CD193, F4/80, Siglec-F
间充质干细胞	CD44, CD73, CD90, CD105	CD29, CD44, CD73, CD90, Sca-1, CD105
	CD11b(-), CD14(-), CD19(-), CD34(-), CD45(-), HLA-DR(-)	CD11b(-), CD14(-), CD19(-), CD34(-), CD45(-)
内皮细胞	CD31, CD34, CD105, CD144	CD31, CD34, CD105, CD144

黑色字体为重组流抗，褐色字体为杂交瘤流抗，灰色字体即将上线

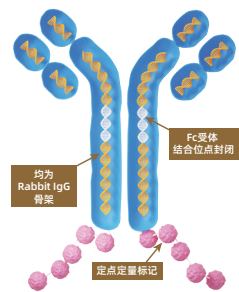
Proteintech 提供 20 余种荧光染料进行偶联，可完成 12 色的流式配色！

FcZero-rAb® 重组流式抗体 专利技术

FcZero-rAb® 重组流式抗体来自 Proteintech ABCE™ 单个 B 细胞抗体发现和 FcZero® Fc 沉默双重技术平台，在保持重组抗体一致性的同时，有效避免了传统杂交瘤细胞系表达退化的风险，具有更佳的流式检测性能。

4 大优势：

- 1) **Fc 沉默** 无需使用Fc受体封闭试剂，省时省力。
- 2) **定点定量标记** 偶联染料不影响抗体活性中心，且批间荧光强度高度均一。
- 3) **同型对照选择简便** 抗体均为Rabbit IgG亚型，大大降低实验难度及成本。
- 4) **高批间一致性** 从DNA层面确保抗体高度一致



全面验证 Fc 沉默性能

1. FcZero-rAb® 重组流抗完全消除了与人及小鼠 FcγR 结合

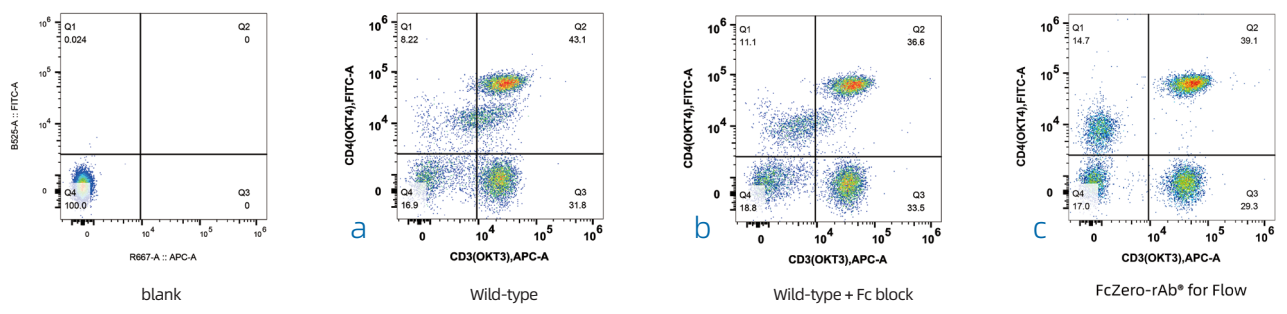
BLI 法测定亲和力

Human Fc 受体类型	Rabbit IgG-wild type	FcZero® 沉默抗体
	是否与其结合	是否与其结合
FcγRI/CD64	√	×
FcγRIIa/32a(167R)	√	×
FcγRIIa/32a(167H)	√	×
FcγRIIb/32b	√	×
FcγRIIIa/CD16a(176F)	√	×
FcγRIIIa/CD16a(176V)	√	×
FcγRIIb/CD16b(NA1 allotype)	√	×
FcγRIIb/CD16b(NA2 allotype)	√	×

Mouse Fc 受体类型	Rabbit IgG-wild type	FcZero® 沉默抗体
	是否与其结合	是否与其结合
FcγRI/CD64	√	×
FcγRIIB	√	×
FcγRIII/CD16	√	×
FcγRIV	√	×

2.FcZero-rAb® 重组流抗 Fc 沉默性能比 Fc 受体封闭剂效果更佳

使用不同 anti-CD3 及 anti-CD4 流抗对人 PBMCs 进行染色，新型 FcZero-rAb® 重组流抗无需阻断试剂即可达到无 Fc 受体结合背景。



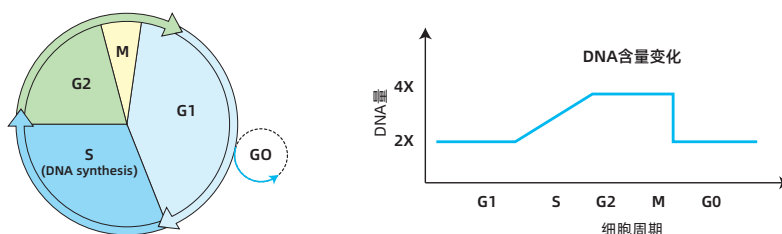
扫码查看产品信息

三、细胞周期检测 -PI 法

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种不透膜 DNA 荧光染料, 与双链 DNA 结合后可产生荧光, 且荧光强度与双链 DNA 的含量成正比。细胞周期各时期的 DNA 含量不同, 通常细胞的 G0/G1 期具有二倍体细胞的 DNA 含量 (2N), 而 G2/M 期具有四倍体细胞的 DNA 含量 (4N), 而 S 期的 DNA 含量介于二倍体和四倍体之间。通过流式细胞术检测到的与 DNA 结合的 PI 的荧光强度可以直接反应了细胞内 DNA 含量的多少。

PI 游离态激发 / 发射波长为 493/636 nm, 结合 DNA 后转为 535/617 nm, 荧光强度增强 20-30 倍。因此常用作细胞周期, 细胞凋亡和细胞坏死的流式检测。

在细胞周期和细胞凋亡分析时, 需要使用核糖核酸酶 A (RNase A) 降解 RNA, 确保 PI 仅对细胞核中的 DNA 染色。



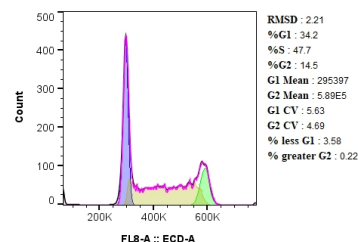
▲细胞周期中的DNA含量变化

1. 试剂准备

碘化丙啶 PI 染色液 (货号: PF00035, 即用型, 内含 RNase A)

2. 细胞周期检测操作流程

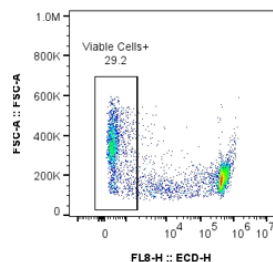
1. 按照 1×10^6 细胞 / 管, 收集完细胞后加入 $1 \times$ PBS 混匀, 用 300-500 g 的离心力, 离心 5 min 后, 弃上清。
2. 以总体积 2 mL 为例, 加入 0.6 mL 的 $1 \times$ PBS 与细胞沉淀混匀, 然后加入 1.4 mL 的 -20°C 无水乙醇 (需提前预冷) 颠倒混匀即可。
3. 将混匀后的细胞放置在 -20°C 过夜 (-20°C 保存可达数周甚至一个月)。
4. 染色当天取出标本, 用 300-500 g 的离心力, 离心 5 min 后, 尽可能完全去除上清, 然后再用 $1 \times$ PBS 洗涤 2 次。
5. 每管加入 0.1 mL 的碘化丙啶 PI 染色液染色细胞, 充分混匀, 室温孵育 30 min。
6. 用 300-500 g 的离心力, 离心 5 min 后, 去上清。
7. 加入 0.2 mL 的 $1 \times$ PBS 重悬细胞。在流式细胞仪上采集样品。



Jurkat细胞的细胞周期分析

3. 活细胞染色操作流程

1. 按照 1×10^6 细胞 / 管, 收集完细胞后加入 $1 \times$ PBS 混匀, 用 300-500 g 的离心力, 离心 5 min 后, 弃上清。
2. 每管加入 0.1 mL 的碘化丙啶 PI 染色液染色细胞, 充分混匀, 室温孵育 30 min。
3. 用 300-500 g 的离心力, 离心 5 min 后, 去上清。
4. 加入 0.2 mL 的 $1 \times$ PBS 重悬细胞。在流式细胞仪上采集样品。

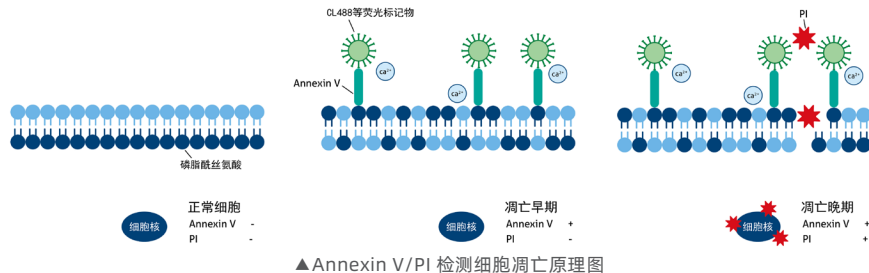


大鼠脾细胞, 经热处理后进行染色。

四、细胞凋亡检测—Annexin V 和 PI 法

Annexin V 可以选择性结合磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, 简称 PS)。在细胞发生早期凋亡时, PS 会外翻到细胞表面, 即细胞膜外侧。用荧光探针 CL488 或 CL647 标记的 Annexin V 结合外翻的磷脂酰丝氨酸, 从而检测凋亡早期的细胞。

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种 DNA 结合染料, 它可以染色坏死细胞或凋亡晚期丧失细胞膜完整性的细胞的细胞核。PI 可以由 488, 532 或 546nm 的激光激发, 呈现红色荧光。



1. 试剂准备

CoraLite® Plus 488-Annexin V 和 PI 细胞凋亡检测试剂盒 (货号: PF00005)

组分	规格 -50T	规格 -100T
1× Annexin V 结合缓冲液	50 mL	50 mL × 2
CL488-Annexin V	250 uL	500 uL
PI	500 uL	1 mL

2. 操作流程 (以星形孢菌素诱导Jurkat细胞凋亡的流式检测为例, 若使用其他诱导剂和其他类型的细胞, 实验条件需要略作调整。)

1. 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品, 作为阴性对照。此外, 设定一组样品做单染, 用于调节补偿。

2. 收集细胞。悬浮细胞: 300 g, 4°C 离心 5 min 收集细胞; 贴壁细胞: 用不含 EDTA 的胰酶消化后 300 g, 4°C 离心收集细胞, 胰酶消化时间不宜过长, 以防引起假阳性。

注: 用胰蛋白酶消化后, 将细胞在最佳细胞培养条件和培养基中恢复约 30 min, 然后再染色。胰蛋白酶消化会暂时破坏质膜, 允许 Annexin V 结合磷脂酰丝氨酸在细胞膜的细胞质表面上, 从而导致假阳性染色。

3. 用预冷的 PBS 洗涤细胞两次, 每次均在 300 g, 4°C 下离心 5 min, 收集 $1-5 \times 10^5$ 个细胞并用 100 uL 1× 结合缓冲液重悬细胞。

4. 每管加入 4-5 uL 的 CL488-Annexin V 和 5 uL 的 PI 工作液。

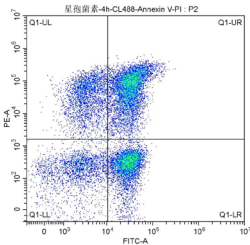
注: 推荐准备两管额外的流式管, 每管中只加入一种单染染料 (CL488-Annexin V 和 PI), 用于流式单染的补偿调节。

5. 室温避光孵育 10-15 min, 为避免细胞凋亡进程, 孵育过程可在冰上操作。

6. 每管加入 400 uL 的 1 X Annexin V 结合缓冲液, 尽快通过流式细胞仪检测细胞凋亡情况。CL488-Annexin V 由 488 nm 激光激发, 检测荧光发射光谱在 530 nm 处 (FITC 通道), PI 通道发射光谱约在 617 nm 处。

注: PBS 或 1× Annexin V 结合缓冲液的选择根据不同凋亡处理以及不同细胞具体选择。

3. 数据验证



在 SSC/FSC 图中分析细胞群体:

X 轴选择 FITC-A, 用来表示 CL488-Annexin V。Y 轴选择 PE-A 用来表示。

左图中各个区域的意义:

Q1-UL: (CL488-Annexin V)/PI+, 此区域的细胞为坏死细胞。也可能有少数的晚期凋亡细胞在其中, 甚至机械损伤的细胞也包含其中。

Q1-UR: (CL488-Annexin V)+/PI+, 此区域的细胞为晚期凋亡细胞。

Q1-LR: (CL488-Annexin V)+/PI-, 此区域的细胞为早期凋亡细胞。

Q1-LL: (CL488-Annexin V)/PI-, 此区域的细胞为活细胞。

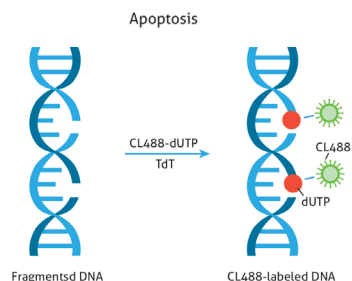
通常统计细胞凋亡率时采用 Q1-UR+Q1-LR, 晚期凋亡 + 早期凋亡群 (即所有 Annexin V 阳性群)。

Proteintech 提供 Annexin V 法细胞凋亡检测试剂盒产品

产品名称	货号	光谱特性
CoraLite® Plus 488-Annexin V 和 PI 细胞凋亡检测试剂盒	PF00005	CL488-Annexin V: Ex/Em=490/515 nm CL647-Annexin V: Ex/Em=654/674 nm PI: Ex/Em=535/617 nm (with DNA)
CoraLite® Plus 647-Annexin V 和 PI 细胞凋亡检测试剂盒	PF00036	

四、细胞凋亡检测 -TUNEL 法

细胞凋亡的一个显著特点是细胞染色体 DNA 的降解，这种降解非常特异并有规律，所产生的不同长度的 DNA 片段约为 180 bp-200 bp 的整数倍，表现为琼脂糖凝胶电泳中呈现特异的梯状 Ladder 图谱。TUNEL 法即使用末端脱氧核糖核苷酸转移酶 (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, TdT) 在凋亡细胞断裂 DNA 的 3'-OH 末端催化掺入 CL488-dUTP 或 CL594-dUTP。CL488-dUTP 或 CL594-dUTP 标记的 DNA 可以用荧光显微镜直接观察或者用流式细胞仪定量。



1. 试剂准备

CoraLite® Plus 488 Plus TUNEL凋亡检测试剂盒（货号：PF00006）

组分	20 T	50 T
CL488 TUNEL Reaction Buffer	1 mL	2 × 1.25 mL
TdT Enzyme	40 uL	100 uL
Proteinase K (2 mg/mL)	40 uL	100 uL
DNase I (2 U/uL)	5 uL	13 uL
10× DNase I Buffer	100 uL	260 uL

2. 操作流程

一、样本准备：

1. 细胞样品

- 1) 可选：准备一份阴性对照样本（加入不含 TdT 酶的 TUNEL 反应液）。
- 2) PBS 清洗细胞两次。
- 3) 细胞固定：加入适量 4% 多聚甲醛（pH 7.4）溶液，4℃放置 30 min。
- 4) PBS 清洗细胞两次。
- 5) 通透细胞：加入冰上预冷的 70% 乙醇，在 -20℃孵育 4h，或者细胞可用含 0.2% Triton X-100 的 PBS 溶液通透，室温放置 20 min。
- 6) PBS 清洗细胞两次。

2. 石蜡组织切片

- 1) 室温下用二甲苯浸泡石蜡组织切片 2 次，每次 5 min，以彻底脱掉石蜡。
- 2) 室温下，将切片样本浸没于无水乙醇中漂洗 2 次，每次 5 min。
- 3) 室温下，将切片样本连续浸没在不同浓度梯度的乙醇（95%、90%、80%、70%）中，每种浓度各漂洗 1 次，每次 5 min。
- 4) 室温下，将切片依次浸没于纯水、1× PBS 中各漂洗 1 次，每次 3 min，用滤纸小心吸干切片样本周围多余液体。
- 5) 用免疫组化笔在切片样本周围描绘样品轮廓，以便下游通透与标记。
- 6) 按 1:50 的比例，将 2 mg/ml 的 Proteinase K 溶液（PR30014）用 1× PBS 稀释，使其终浓度为 40 ug/mL。每个样本上滴加 100 uL 稀释好的 Proteinase K 溶液，使溶液覆盖全部样本区域，室温孵育 20 min。

注：蛋白酶 K 可以帮助渗透组织，但延长孵育时间可能导致切片脱落，所以要优化孵育时间长短。时间一般为 10-30 min，4 um 左右的片子可以用 10 min，30 um 左右的可用 30 min。过长易脱片、过短起不到通透效果。

- 7) PBS 浸润清洗切片 2 次，每次 5 min，用滤纸吸去多余的液体，将处理好的样品放在湿盒中保持湿润。

注：这一步必须把蛋白酶 K 洗涤干净，否则会严重干扰后续的标记反应。

3. 冰冻组织切片

- 1) 将冰冻切片放置于室温的片架上，室温 20 min，晾干。
- 2) 将载玻片浸没在 4% 多聚甲醛溶液（in PBS）中，室温固定 30 min。
- 3) PBS 浸润清洗切片 2 次，每次 5 min。
- 4) 用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。

5) 按 1:50 的比例, 将 2 mg/ml 的 Proteinase K 溶液用 1× PBS 稀释, 使其终浓度为 40 ug/mL。每个样本上滴加 100 uL 稀释好的 Proteinase K 溶液, 使溶液覆盖全部样本区域, 室温孵育 20 min。(Proteinase K 的孵育时间、温度需根据不同类型组织样本进行优化)。

6) PBS 浸润清洗切片 2 次, 每次 5 min, 用滤纸吸去多余的液体, 将处理好的样品放在湿盒中保持湿润。

4. 阳性处理 (仅阳性对照进行此步骤, 其他样品直接进行 TUNEL 反应步骤)

- 1) 按 1:10 的比例用 ddH₂O 将 10× DNase I Buffer 稀释成 1× DNase I Buffer 备用。
- 2) 滴加 100 uL 1× DNase I Buffer 到已通透的样本上, 室温平衡 5 min。
- 3) 用 1× DNase I Buffer 以 1:100 稀释 DNase I (2 U/uL), 使其为终浓度 20 U/mL 的工作液。
- 4) 轻轻吸掉多余液体, 加入 100 uL 浓度为 20 U/mL DNase I 工作液, 室温孵育 10 min。
- 5) 轻轻吸掉多余液体, PBS 清洗样品 2 次。

二、TUNEL 反应

1. 预先配制 TUNEL 反应液 (即用即配): 每个样本需要已加入 2 uL TdT 酶的 50 uL TUNEL 反应液 (如 2 uL TdT 酶加入到 48 uL TUNEL 反应缓冲液中, 多个样本以此类推)。

2. 用滤纸小心吸去切片样本周围的多余液体, 每个样本加入 50 uL TUNEL 反应混合液。

- 1) 贴壁细胞, 用盖玻片使缓冲液均匀覆盖样本。37°C 避光孵育 60 min。
- 2) 悬浮细胞, 可加入微孔板中, 采用微孔板振荡器进行孵育或每隔 15 min 温和的震荡反应管, 使之充分反应。37°C 避光孵育 60 min。
- 3) 组织样本, 用盖玻片使缓冲液均匀覆盖样本。将样本平放于湿盒内, 湿盒底部铺一张含少量水的纸巾保持湿度。37°C 避光孵育 2 h。

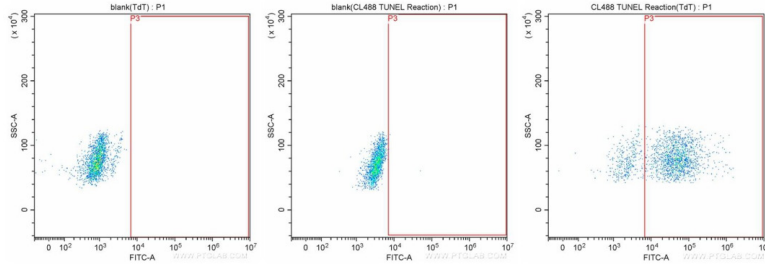
3. 去掉反应液, 在 1× PBS 的染色缸中浸泡润洗 2 次, 每次 5 min。再使用适量配制于 PBS 中的 0.1% Triton X-100, 其中含 5 mg/mL BSA 的缓冲液清洗样本 3 次, 每次 5 min, 以降低背景。

4. (可选) 复染: 每个样本滴加浓度为 2 ug/mL 的 DAPI 染液, 避光室温孵育 10 min。染色完后, 轻轻去掉染液, 并将样本在 1× PBS 中浸泡润洗 3 次, 每次 5 min。

5. (可选) 封片: 将切片样本先纯水浸没 5 min, 再依次放入 70% 乙醇、80% 乙醇、90% 乙醇、95% 乙醇、无水乙醇各浸没 5 min, 最后将切片样本置于染色缸中以新鲜的二甲苯浸泡透明化处理 2 次, 每 5 min。(通风厨中操作)。脱水完成后, 擦去切片周围的液体, 每个切片样本滴加 50 uL 抗荧光淬灭封片液, 盖上盖玻片, 用镊子的钝端轻轻敲击盖玻片, 去除气泡以使封片完全。

6. 用荧光显微镜或流式细胞仪观察、分析, CL488 是一种绿色荧光染料, 激发波长、发射波长分别为 490 nm, 515 nm (凋亡细胞应被标记上明亮的绿色荧光, 没有加入 TdT 酶的阴性对照样本未被标记上荧光)。

3. 数据验证



▲上述实验结果是以培养三天的Jurkat 细胞进行流式实验, 检测细胞样品中的凋亡细胞的情况

Proteintech提供TUNEL法细胞凋亡检测试剂盒产品

产品名称	货号	光谱特性
CoraLite® Plus 488 TUNEL 凋亡检测试剂盒	PF00006	CL488: Ex/Em=490/515 nm CL594: Ex/Em=593/614 nm PI: Ex/Em=535/617 nm (with DNA)
CoraLite®594 TUNEL 凋亡检测试剂盒	PF00009	

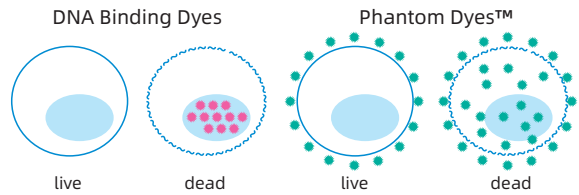
五、细胞死活鉴定

在细胞生物学实验中，判断细胞的死活状态是常见操作。通常，研究人员会使用细胞死活染料对细胞进行染色，用流式检测的方法区分活细胞与死细胞。此外，专用的死活细胞染色试剂盒也能方便、快速地完成这一检测任务。

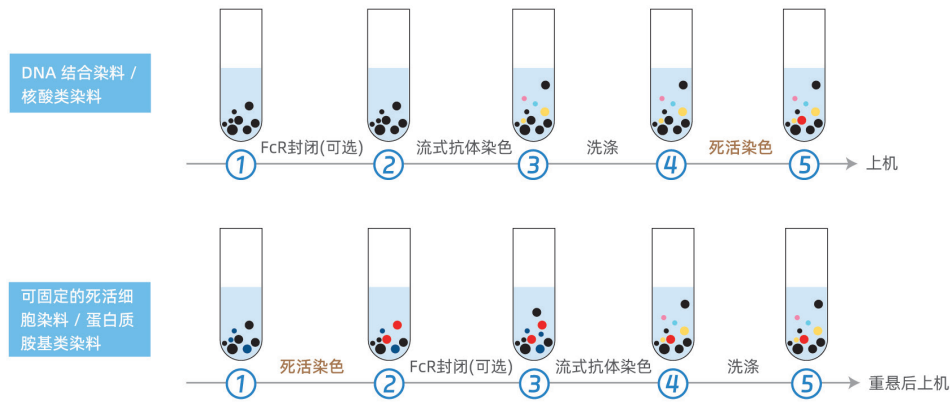
1. 死活细胞鉴定染料

死细胞由于膜通透性的改变容易摄取抗体导致明显的非特异性染色，且死细胞比活细胞有更强的自发荧光从而导致背景荧光增强，难以识别罕见细胞群和弱阳性指标。同时，死细胞中释放的核酸物质也会导致细胞成团，堵塞管路，影响结果。因此通常会使用死活细胞鉴定染料区分死活细胞。

死活细胞鉴定染料通常有 2 类：DNA 结合染料 / 核酸类染料和可固定的死活细胞染料 / 蛋白质胺基类染料。



流式细胞术染色流程



死活细胞染料类型	DNA 结合染料 / 核酸类染料	可固定的死活细胞染料 / 蛋白质胺基类染料
染色原理	由于活细胞具有完整的膜结构，非通透性核酸染料很难进入细胞内，而对于死细胞，膜通透性发生改变，染料很容易进入细胞内而使核酸染色，但是无法区分已固定的活细胞和死细胞。	蛋白胺基染料，活细胞的细胞膜表面蛋白会结合染料，但是信号较弱；死细胞的细胞膜通透性改变，胞内的蛋白也会结合染料，从而叠加产生更强的荧光信号。
样品是否能固定	否	是
染色方法	先进行表面染色，流式检测前 5-15 分钟加入死活染料，检测前无需洗涤。	先加入死活染料染色 30 分钟，洗涤去除未反应的染料，再进行表面染色及胞内染色。染色时须使用不含蛋白和叠氮钠的 PBS 缓冲液。
荧光类型	选择性少	颜色种类多，覆盖 UV、405、488、532、561、633nm 多种激光。
常见染料	PI, 7-AAD, DAPI, SYTOX®, TO-PRO-3, Via-Probe, DRAQ7 等。	Phantom Dyes, LIVE/DEAD® fixable viability dyes, Zombie Dyes™, Ghost Dyes™等
是否可用于表面染色	√	√
是否可用于胞内染色	×	√

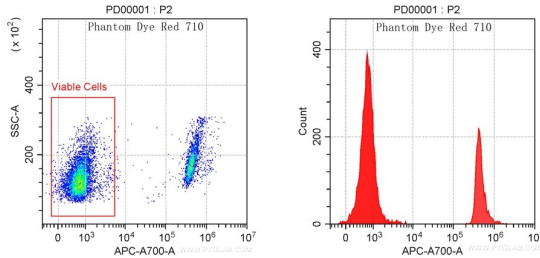
注意事项

- A. 样品中的细胞死亡是不断发生的，所以在不同样品进行分析之前，要确保在一致的时间添加染料，以便进行准确的比较。
- B. 7-AAD和PI荧光特性相似，但7-AAD发射波谱较PI窄，对其他检测通道的干扰更小，在多色荧光分析中是PI的最佳替代品。7-AAD可以与FITC, PE, APC联用。

Proteintech提供多种即用型死活细胞鉴定染料

功能	产品名称	货号	激光器 (nm)	对应通道
结合 DNA/ 核酸	7-AAD 死活细胞鉴定染料	PD00101	488/532/561	Percp, PE
结合胞内蛋白质	Phantom Dye Red 710 死活细胞鉴定染料	PD00001	633	CL700, AF700
	Phantom Dye Red 780 死活细胞鉴定染料	PD00002	633	CL750, APC-Cy7
	Phantom Dye UV 450 死活细胞鉴定染料	PD00003	355	DAPI, Hoechst Blue (紫外激光)
	Phantom Dye Violet 450 死活细胞鉴定染料	PD00004	405	CL405, BV421
	Phantom Dye Violet 510 死活细胞鉴定染料	PD00005	405	CLV510, BV510
	Phantom Dye Violet 540 死活细胞鉴定染料	PD00006	405	CLV510, BV510
	Phantom Dye Blue 516 死活细胞鉴定染料	PD00007	488	FITC
	Phantom Dye Yellow 583 死活细胞鉴定染料	PD00008	561	PE(黄激光)
	Phantom Dye Red 642 死活细胞鉴定染料	PD00009	633	APC

案例：Phantom Dye Red 710死活细胞鉴定染料（货号：PD00001）



◀ 将小鼠胸腺细胞在65℃下10分钟热灭活，然后与活的小鼠胸腺细胞混合。用Phantom Dye Red 710 Viability Dye对细胞进行染色。显示的设门圈出活细胞。

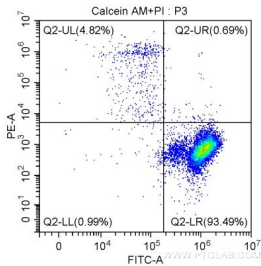
2. 活 / 死细胞染色试剂盒

活 / 死细胞染色试剂盒（Calcein AM, PI 法）与活 / 死细胞染色试剂盒（Calcein AM, EthD-I 法）均基于双荧光标记原理，能够快速、直观地检测细胞活力。其中 Calcein AM 作为活细胞染料—该物质可透过完整细胞膜，被胞内酯酶水解为绿色荧光的钙黄绿素，从而标记活细胞。PI（碘化丙啶）和 EthD-I（乙啶同源二聚体-1）均不能透过活细胞膜，但能进入膜受损的死细胞，与 DNA 结合后分别发出红色或橙红色荧光。该试剂盒可用于荧光显微镜、流式细胞仪、酶标仪以及其他荧光检测系统。

Proteintech提供活/死细胞染色试剂盒产品

产品名称	货号	光谱特性
活 / 死细胞染色试剂盒（Calcein AM, PI 法）	PF00007	Calcein AM: Ex/Em = 494/517 nm PI: Ex/Em= 535/617 nm
活 / 死细胞染色试剂盒（Calcein AM, EthD-I 法）	PF00008	EthD-I: Ex/Em = 528/617 nm

案例：活/死细胞染色试剂盒（Calcein AM, PI法）（货号：PF00007）



◀ Jurkat细胞使用Calcein AM, PI法流式检测
 Q2-UL: Cell Group with Calcein AM -, PI + (死细胞) ;
 Q2-LL: Cell Group with Calcein AM-, PI - (细胞碎片) ;
 Q2-LR: Cell Group with Calcein AM +, PI - (活细胞) 。

六、流式实验试剂目录

1. 流式抗体（5000+ 流抗 覆盖热门靶点）

实验及用途	中文名称	优势
流式抗体	FcZero-rAb® 重组流式抗体	Fc 沉默及定点标记双重技术，无需使用 Fc 受体封闭剂
	Uni-rAb™ 重组流式抗体	靶点多，重组技术，纯度更高更特异
	传统杂交瘤流式抗体	覆盖热门靶点
	单链抗体 scFv	适用纳米流式检测
	同型对照抗体	重组技术，高特异
间标流式	荧光染料偶联重组二抗	重组技术，稳定供应

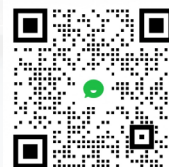
2. 配套试剂（齐全的试剂，一站式解决方案）

应用	实验及用途	中文名称	货号
样本制备	样本处理	腹腔巨噬细胞诱导剂	PR40028
		蛋白转运抑制剂（500X）	PR40029
		PMA	CM00437
		Brefeldin A	CM03062
		Ionomycin	CM06928
		Monensin	CM00375
	T 细胞活化	人 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠试剂盒	KMS310
		小鼠 CD3/CD28 T 细胞激活磁珠试剂盒	KMS311
	红细胞裂解液	红细胞裂解液（无菌）	PR30017
		红细胞裂解液（10X）	PF00014
		红细胞裂解液（1X，含固定剂）	PF00015
	制备单细胞悬液	0.25% 胰蛋白酶 -EDTA 消化液（含酚红）	PR40020
		0.25% 胰蛋白酶 -EDTA 消化液（不含酚红）	PR40021
	细胞分选	磁珠细胞分选系列产品	查询
封闭	花青素串联染料封闭试剂	MonoZero® 单核细胞封闭剂	PF00020
	Fc 受体封闭试剂	MonoZero® 人 Fc 受体封闭剂	PF00032
		MonoZero® 小鼠 Fc 受体封闭剂	PF00031
	多效封闭剂	MonoZero® 人 & 小鼠三合一封闭剂	PF00029
染色缓冲液	缓冲液	流式细胞染色缓冲液 (1X)	PF00018
	固定 / 破膜	流式胞内固定破膜缓冲液试剂盒	PF00019
		Foxp3/ 转录因子流式固定破膜缓冲液试剂盒	PF00011
		流式检测磷酸化蛋白固定通透试剂盒	PF00026
		流式细胞固定液	PF00016
		流式细胞通透剂	PF00017
死活染料	区分死活细胞	7-AAD 死活细胞鉴定染料	PD00101
		Phantom Dye 系列死活染料	PD00001~PD00009
细胞活力检测	细胞活力检测试剂盒	CoraLite® Plus 488-Annexin V 和 PI 细胞凋亡检测试剂盒	PF00005
		CoraLite® Plus 647-Annexin V 和 PI 细胞凋亡检测试剂盒	PF00036
		CoraLite® Plus 488 TUNEL 凋亡检测试剂盒（绿色荧光）	PF00006
		CoraLite®594 TUNEL 凋亡检测试剂盒（红色荧光）	PF00009
		活 / 死细胞染色试剂盒 (Calcein AM, PI 法)	PF00007
		活 / 死细胞染色试剂盒 (Calcein AM, EthD-I 法)	PF00008



Proteintech 可提供专业的流式配色和数据分析服务

欢迎联系 Proteintech 流式技术咨询相关服务



扫码咨询流式技术支持



READING THE BOOK OF LIFE



WeChat Official Account

Proteintech Group, USA,
5400 Pearl Street, Suite 300,
Rosemont, IL 60018, USA
t. 1-888-478-4522
e. proteintech@ptglab.com

Proteintech Europe,
Manchester Science Park, Kilburn House,
Lloyd Street North, Manchester, M15 6SE
t. (+44)-161-22-66-144
e. europe@ptglab.com

武汉三鹰生物技术有限公司
武汉市东湖开发区高新大道 666 号 D3-3
t. 027-87531637
e. Proteintech-CN@ptgcn.com