

# 实验报告书

项目名称：流式细胞仪检测 A172 细胞凋亡的实验报告

客户姓名：

合同号：

项目负责人：

## 一、 实验仪器与试剂

表格一：实验仪器

| 仪器      | 厂家                | 型号                        |
|---------|-------------------|---------------------------|
| 细胞培养箱   | Thermo Scientific | HERA cell CO <sub>2</sub> |
| 低温高速离心机 | 64R               | BECKMAN                   |
| 流式细胞仪   | BD                | FACS Calibur              |

表格二：试剂

| 试剂                        | 厂家      |
|---------------------------|---------|
| DMEM 培养液                  | Hyclone |
| 胎牛血清                      | Gibco   |
| 无钙、镁 PBS 7.4 (0.1 M)      | 自配      |
| Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒 | BD      |

## 二、 实验步骤

### 1. 细胞培养

取对数生长期的 A172 细胞，按  $1 \times 10^5$  个/mL 以 1mL 体积接种于 6 孔板内。  
无抗生素培养液培养过夜，到转染时使细胞达到 70% 的汇合率。

### 2. 转染

- 1) 将 12.5uL siRNA 溶于 387.5uL 无血清的 DMEM 中，混合均匀。
- 2) 将 12.5uL Lipofectamine 2000 溶于 387.5uL 无血清的 DMEM 中，混合均匀。在室温下孵育 5 分钟。
- 3) 将上述两种混合物混合（总体积 800uL），轻轻混合均匀在室温下孵育 20 分钟形成复合物。
- 4) 在 6 孔板中每孔加入 800uL 复合物。十字法混合均匀。
- 5) 细胞在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 6h 后弃上清液，并加入 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液。

### 3. 染色

消化并离心收集细胞（1000rpm/min）后弃上清，加入无钙、镁 PBS 1mL 洗 2 次，离心后弃上清。分别加入 100uL binding buffer、5uL Annexin V-FITC 和 5uL PI 溶液，室温避光孵育 15min。

### 4. 检测

上海秉新生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区龙吴路 2715 号 2A 楼 110 室

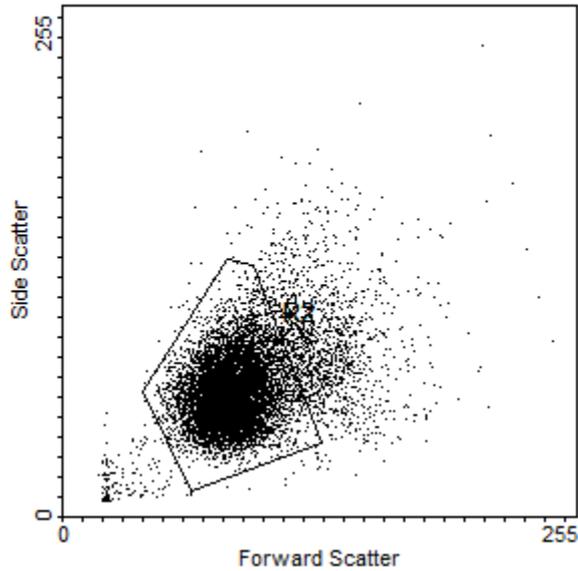
电话：021-54438753

网址：www.bio-nano.com.cn

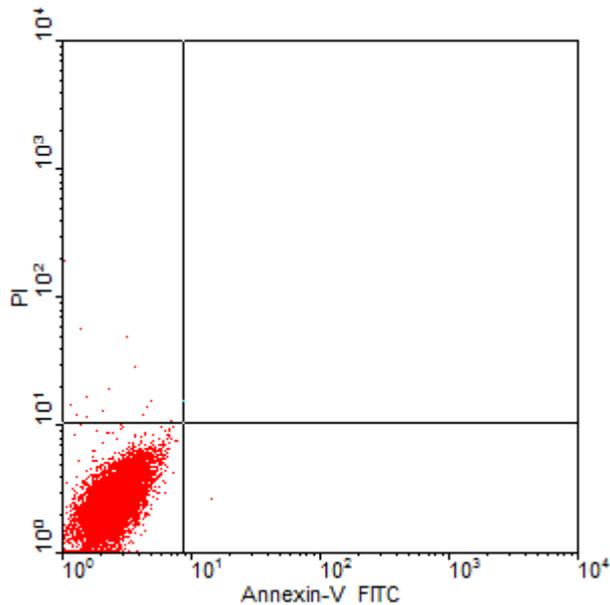
邮箱：service@bio-nano.com.cn

加入 400 $\mu$ L binding buffer 后以标准程序用流式细胞仪检测，汞激发波长 488nm，计数 1 万个细胞。

### 三、 实验结果



对照

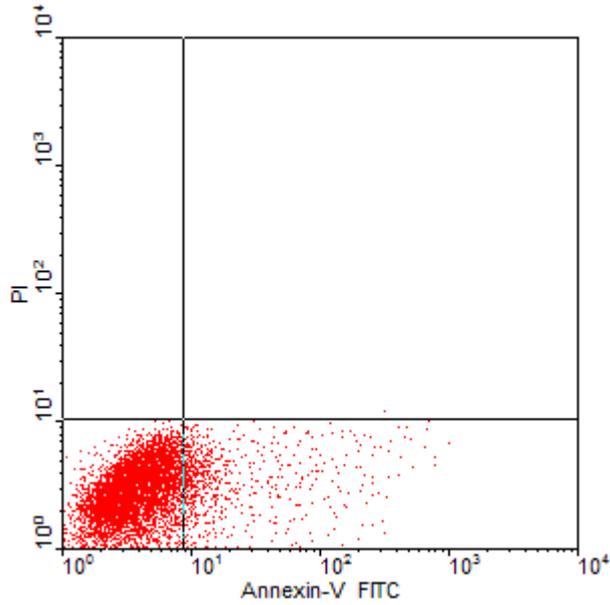


| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 14     | 0.14   | 0.17   |

---

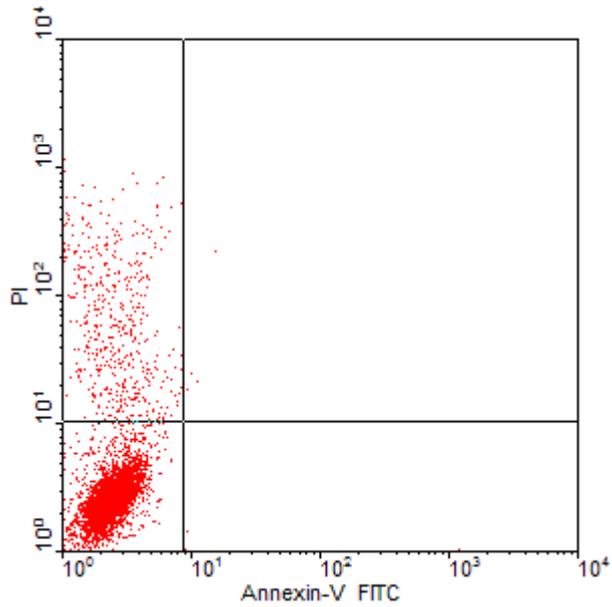
|      |      |       |       |
|------|------|-------|-------|
| 2 UR | 1    | 0.01  | 0.01  |
| 3 LL | 8402 | 84.02 | 99.81 |
| 4 LR | 1    | 0.01  | 0.01  |

Annexin-V 对照



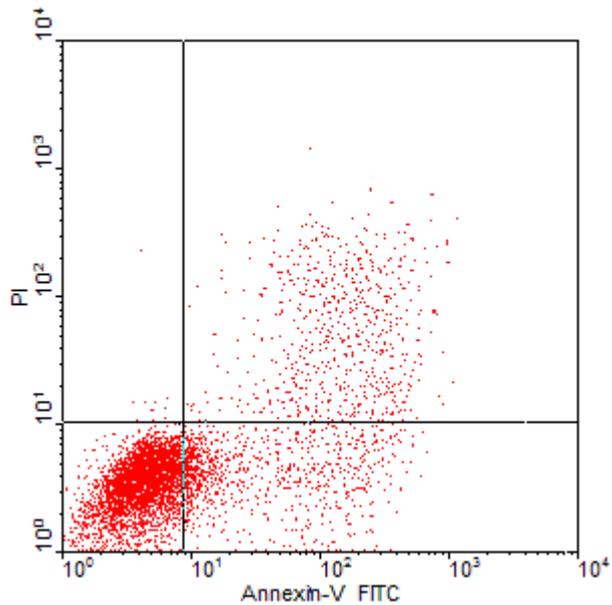
| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 0      | 0.00   | 0.00   |
| 2 UR | 3      | 0.01   | 0.01   |
| 3 LL | 7510   | 75.10  | 86.81  |
| 4 LR | 809    | 8.09   | 13.18  |

PI 对照



| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 693    | 6.93   | 12.41  |
| 2 UR | 7      | 0.07   | 0.08   |
| 3 LL | 7777   | 77.77  | 87.49  |
| 4 LR | 1      | 0.01   | 0.02   |

实验 siRNA 组



| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 11     | 0.11   | 0.15   |
| 2 UR | 1075   | 10.75  | 17.54  |

上海秉新生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区龙吴路 2715 号 2A 楼 110 室

电话：021-54438753

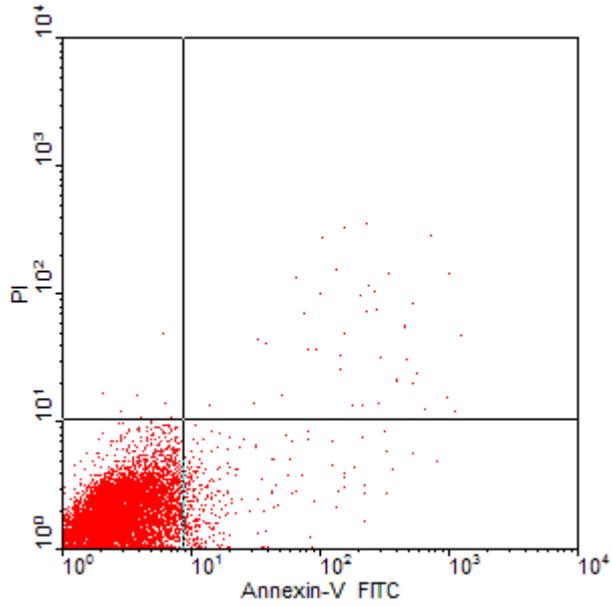
网址：[www.bio-nano.com.cn](http://www.bio-nano.com.cn)

邮箱：[service@bio-nano.com.cn](mailto:service@bio-nano.com.cn)

---

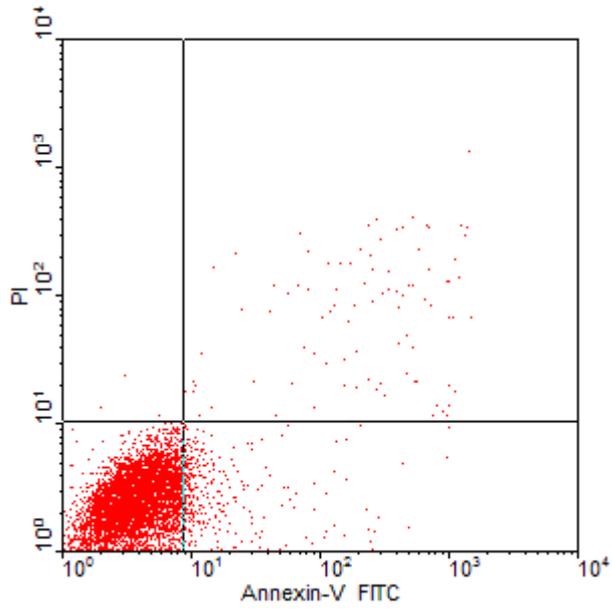
|      |      |       |       |
|------|------|-------|-------|
| 3 LL | 5759 | 57.59 | 67.47 |
| 4 LR | 938  | 9.38  | 14.84 |

阴性 siRNA 组



| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 7      | 0.07   | 0.09   |
| 2 UR | 108    | 1.08   | 1.43   |
| 3 LL | 8088   | 80.88  | 94.33  |
| 4 LR | 255    | 2.55   | 4.15   |

转染试剂组



| Quad | Events | %Total | %Gated |
|------|--------|--------|--------|
| 1 UL | 4      | 0.04   | 0.06   |
| 2 UR | 129    | 1.29   | 1.58   |
| 3 LL | 8023   | 80.23  | 95.69  |
| 4 LR | 188    | 1.88   | 2.67   |