



# Annexin V-FITC/PI Apoptosis Detection Kit

## AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

### 产品简介

磷脂酰丝氨酸 (PS) 是一种带负电荷的磷脂, 正常细胞中, PS 只分布在细胞膜脂质双层的内侧, 而在细胞凋亡早期, 细胞膜中的 PS 由脂膜内侧翻向细胞膜外侧, 使 PS 暴露在细胞膜外表面。而 Annexin V 是一种分子量为 35~36kD 的 Ca<sup>2+</sup>依赖性磷脂结合蛋白, 与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力, 故可通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此 Annexin V 被公认为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。

本产品将 Annexin V 进行绿色荧光素 (FITC) 标记, 以标记了的 Annexin V 作为探针, 利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种核酸染料, 它不能透过正常细胞或早期凋亡细胞的完整的细胞膜, 但对凋亡中晚期的细胞和坏死细胞, PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此采用 Annexin V 与 PI 双染的方法, 可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

### 产品组成

组分	FS0521		
	Annexin V-FITC/PI Apoptosis Detection Kit		
产品货号	50T	100T	Storage
试剂 A: Annexin V-FITC	250ul	500ul	2-8℃避光
试剂 B: Propidium Iodide, PI (50ug/ml)	250ul	500ul	2-8℃避光
试剂 C: Binding Buffer (10×)	5.5ml	11ml	2-8℃
使用说明书	1 份		

**保存及运输:** 2-8℃避光保存, 至少 1 年有效。试剂 A: Annexin V-FITC 禁止冷冻保存, 运输: 冰袋运输

### 试剂配制

1×Annexin V Binding Buffer: 取 1 mL Annexin V Binding Buffer (10×) 加入 9 mL 去离子水中混匀。(去离子水需自备)

### 使用方法

#### 一步法

1. 细胞按照实验方案进行凋亡诱导, 300 ×g 离心 5 min, 弃上清, 收集细胞, PBS 洗涤一次, 轻轻重悬细胞并计数。
2. 取 1~5 × 10<sup>5</sup> 重悬的细胞, 300 ×g 离心 5 min, 弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次, 离心后弃上清, 加入 500 μL 稀释的 1 × Annexin V Binding Buffer 重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 5 μL 的 Annexin V-FITC Reagent 和 5 μL 的 PI Reagent (50μg/mL)。
4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 15~20 min。
5. 立即上机检测。如不能及时检测, 请于冰上避光静置并于 1 小时内完成检测。

**【注】:** 流式细胞仪检测时 Annexin V-FITC 可用 FITC 通道, PI 优先选择 PerCP/Cy5.5 通道, 其次是 ECD 通道。

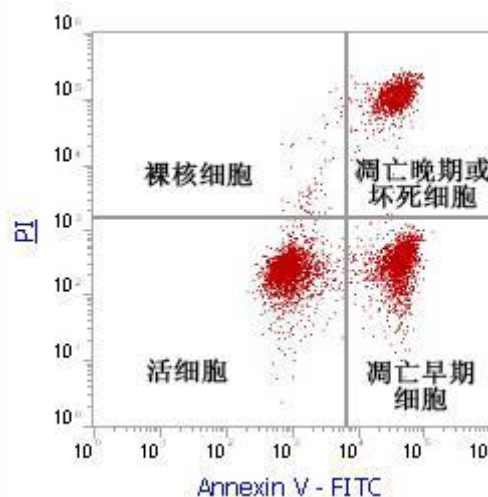


## 两步法

1. 细胞按照实验方案进行凋亡诱导, 300 ×g 离心 5 min, 弃上清, 收集细胞, PBS 洗涤一次, 轻轻重悬细胞并计数。
2. 取  $1\sim 5 \times 10^5$  重悬的细胞, 300 ×g 离心 5 min, 弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次, 离心后弃上清, 加入 100 μL 稀释的  $1 \times$  Annexin V Binding Buffer 重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 2.5 μL 的 Annexin V-FITC Reagent 和 2.5 μL 的 PI Reagent (50μg/mL)。(由于两步法分辨率更高, 染色液用量减半依然可得到媲美一步法的效果; 用户亦可根据自己的模型进行滴定后加入适量的染色液, 用更少的量获得高质量的结果。)
4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 15~20 min。
5. 加入 400 μL 稀释的  $1 \times$  Annexin V Binding Buffer, 混匀样本。
6. 立即上机检测。如不能及时检测, 请于冰上避光静置并于 1 小时内完成检测。

**【注】: 流式细胞仪检测时 Annexin V-FITC 可用 FITC 通道, PI 优先选择 PerCP/Cy5.5 通道, 其次是 ECD 通道。**

## 结果示例



## 注意事项

- 1) 检测贴壁细胞时, 需收集诱导凋亡后产生的悬浮细胞, 并与后续收集的贴壁细胞一起检测。
- 2) 本试剂盒推荐使用悬浮培养细胞。如果是贴壁细胞, 需用不含 EDTA 的胰酶消化, 如消化不当, 可能引起假阳性, 而用细胞刮子会造成细胞粘连成团, 而影响检测。可将胰酶消化后细胞的保存在含 2%BSA 的 PBS 中, 防止进一步的损伤。
- 3) 如果使用含 EDTA 的胰酶, 收集细胞后应充分清洗, 确保 EDTA 被去除干净。
- 4) 染色后宜尽快检测, 时间过长可能会导致凋亡或坏死细胞的数量增加。
- 5) 荧光物质均易发生淬灭, 在进行荧光观察时, 尽量缩短观察时间, 同时在操作和存放过程中也尽量注意避光保存。
- 6) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 相关产品



产品货号	产品名称	规格
FS1147	Trypsin (0.25%), Phenol Red 胰酶溶液 (0.25%) 不含 EDTA,不含酚红	100ml
FS1148	Trypsin-EDTA (0.25%), Phenol Red 胰酶-EDTA 溶液 (0.25%) ,含酚红	100ml
FS1150	Accumax™ Cell Dissociation Solution 细胞解离液	100ml
FS1157	Cell Counting Kit (CCK-8) CCK-8 细胞增殖及毒性检测试剂	500T
FS1166	JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1169	JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒	100T
FS1213	7-AAD Viability Staining Solution 7-AAD 细胞活力染色液	150T
FS1206	DAPI Stain, Ready-to-use 即用型 DAPI 染液(10µg/ml)	10ml
FS0522	AnnexinV Alexa Fluor488/PI 凋亡检测试剂盒	100T
FS0523	AnnexinV Alexa Fluor647/PI 凋亡检测试剂盒	100T

