



## Annexin V-FITC/PI apoptosis kit (C6 专用)

### I. 产品信息

目录号: AP101C

规格: 30T, 100T

保存: 2-8°C避光, 切勿冻存

效期: 一年

### II. 背景简介

Annexin V(或 Annexin A5)为胞内蛋白膜联蛋白家族成员, 以钙依赖的方式与磷脂酰丝氨酸(PS)结合。PS 存在于正常细胞浆膜的内层, 但在凋亡早期, 膜不对称性丧失, PS 易位至细胞表面。荧光标记的 Annexin V 可与之特异性结合, 表明该细胞为凋亡细胞。

PI(碘化丙啶)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, 但可以透过凋亡晚期和坏死细胞的细胞膜而使细胞核染红。因此, 将 Annexin V 与 PI 联合使用时, PI 则被排除在活细胞(Annexin V-/PI-)和早期凋亡细胞(Annexin V+/PI-)之外, 而晚期凋亡细胞和坏死细胞同时被荧光标记的Annexin V 和 PI 结合染色呈现双阳性(Annexin V+/PI+)。

本试剂盒仅需 15 分钟即可染色样本, 快速方便。提供阳性质控液, 便于制备单染管, 调节补偿。此凋亡试剂盒针对 BD 的C6 仪器进行优化。

### III. 试剂盒组分

| 组分 \ 规格                             | 30 T        | 100 T        |
|-------------------------------------|-------------|--------------|
|                                     |             |              |
| Annexin V-FITC                      | 150 $\mu$ l | 500 $\mu$ l  |
| PI                                  | 300 $\mu$ l | 1000 $\mu$ l |
| 5 $\times$ Binding buffer           | 5 ml        | 15 ml        |
| Apoptosis Positive Control Solution | 5 ml        | 5 ml         |

### IV. 使用方法

#### 一、仪器参数调节

- 收集 $1 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ 个细胞, 用预冷 PBS 离心洗涤两次, 弃上清。
- 加入500 $\mu$ l Apoptosis Positive Control Solution 重悬, 置冰上孵育 30 分钟。
- 用预冷 PBS 离心洗涤, 弃上清。
- 加入适量预冷  $1 \times$  Binding Buffer 重悬, 并加入数量相同且未经处理的活细胞与之混合。加入预冷  $1 \times$  Binding Buffer 补充至1.5 ml, 等分成三管, 其中一管为空白对照管、两管为单染管。
- 单染管分别加入 5 $\mu$ l Annexin V-FITC 或10 $\mu$ l PI, 室温避光孵育 5 分钟。
- 在流式细胞仪上, 用空白管调节 FSC、SSC 和荧光通道的电压, 并在此电压条件下, 用单染管调节荧光通道的补偿。

**注:** 某些将贴壁细胞处理为单个细胞的过程中会造成细胞膜损伤, 从而造成 Annexin V 假阳性。因此需要进行优化。可使用对细胞更温和的酶如 Accutase (目录号 AT001)处理贴壁细胞。

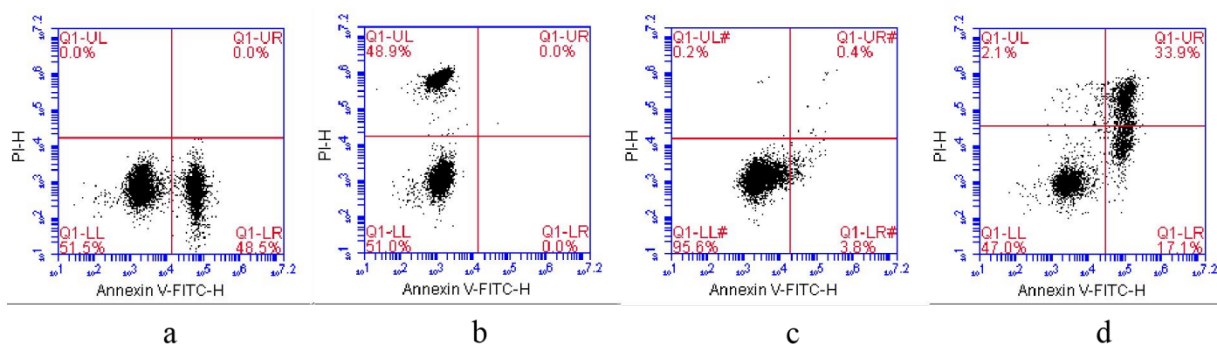


## 二、样本检测

1. 按实验方案诱导凋亡。
2. 用预冷 PBS 离心洗涤, 收集  $1 - 10 \times 10^5$  个细胞(包括培养上清中的细胞)。用双蒸水稀释  $5 \times$  Binding Buffer 为  $1 \times$  工作液, 取  $500\mu\text{l}$   $1 \times$  Binding Buffer 重悬细胞。
3. 每管加入  $5\mu\text{l}$  Annexin V-FITC 和  $10\mu\text{l}$  PI。
4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 5 分钟。
5. 根据实验方法, 进行流式分析。
6. 流式分析

在流式细胞仪上, 通过 FITC 检测通道检测 Annexin V-FITC (Ex = 488 nm; Em = 530 nm)和通过 PI 检测通道(Ex = 535 nm; Em = 615 nm)检测 PI。

## V. 结果示例



- a. 阳性质控液处理的 HL60 细胞, Annexin V-FITC 单染; b. 阳性质控液处理的 HL60 细胞, PI 单染
- c. 未经喜树碱诱导的 HL60 细胞, Annexin V-FITC/PI 双染; d.  $5 \mu\text{M}$  喜树碱诱导的 HL60 细胞, Annexin V-FITC/PI 双染

## VI. 注意事项

1. 请在使用本产品前仔细阅读说明书。本产品仅用于科研, 不可用于诊断。
2. 为了您的安全和健康, 请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。
3. 更多凋亡相关产品敬请关注联科生物网站或来电咨询。

## VII. 部分相关产品

| 目录号    | 产品名称  | 规格       |
|--------|---|----------|
| AP101  | Annexin V-FITC/PI apoptosis kit(适用于除 C6 以外的流式细胞仪) | 30T/100T |
| AP104  | Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit                  | 30T/100T |
| AP105  | Annexin V-APC/7-AAD apoptosis kit                 | 30T/100T |
| AP107  | Annexin V-APC/PI apoptosis kit                    | 30T/100T |
| AT001  | Accutase Enzyme                                   | 100ml    |
| AT101  | Annexin V-FITC/PI apoptosis kit(贴壁细胞专用)           | 30T/100T |
| CCS012 | Cell cycle staining Kit                           | 50T      |
| MJ101  | Mitochondria Staining Kit (JC-1)                  | 125T     |