



## Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit

### I. 产品信息

目 录 号: AP104

规 格: 30T, 100T

保 存: 2 - 8℃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。

7-AAD (7-氨基放线菌素 D)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 7-AAD 联合使用时, 7-AAD 则被排除在活细胞(Annexin V-/7-AAD-)和早期凋亡细胞(Annexin V+/7-AAD-)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 7-AAD 结合染色呈现双阳性(Annexin V+/7-AAD+)。相比于 PI (碘化丙啶), 7-AAD 的优势在于它与 FITC、PE 这些发射波长之间的光谱重叠较少, 便于调节补偿。

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。

### III. 试剂盒组分

| 规格<br>组分                            | 30 T   | 100 T   |
|-------------------------------------|--------|---------|
| Annexin V-PE                        | 150 µl | 500 µl  |
| 7-AAD                               | 300 µl | 1000 µl |
| 5 × 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

1. 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。
2. 加入 500 µl Apoptosis Positive Control Solution 重悬, 置冰上孵育 30 分钟。
3. 用预冷 PBS 离心洗涤, 弃上清。
4. 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。
5. 单染管分别加入 5 µl Annexin V-PE 或 10 µl 7-AAD, 室温避光孵育 5 分钟。
6. 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。推荐使用对细胞更温和的酶如 Accutase (货号 AT001)处理贴壁细胞。

贴壁细胞可以在合适的器皿(如无菌载玻片)上培养, 用适当修改的方法进行染色。但此方法尚未在本实验室进行过测试。

Product For Research Use Only rev: AP104-BT1

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

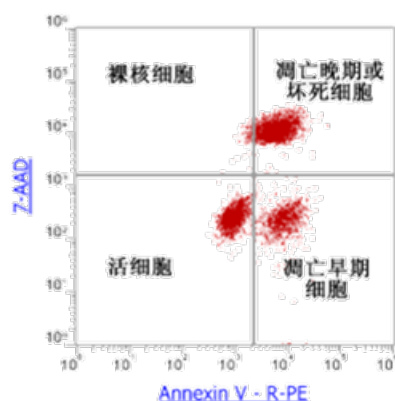
To place an order: order@liankebio.com



## 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-PE 和  $10 \mu\text{l}$  7-AAD。
4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 5 分钟。
5. 上机进行分析。

## V. 结果示例



## 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 |
| AP101C | Annexin V-FITC/PI apoptosis kit (C6 专用)            | 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 |
| AT104  | Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit (贴壁细胞专用)          | 30T/100T |
| AT105  | Annexin V-APC/7-AAD apoptosis kit (贴壁细胞专用)         | 30T/100T |
| AT107  | Annexin V-APC/PI apoptosis kit (贴壁细胞专用)            | 30T/100T |
| CCS012 | Cell cycle staining Kit                            | 50T      |
| MJ101  | Mitochondria Staining Kit (JC-1)                   | 125T     |