



Annexin V-FITC/PI apoptosis kit（贴壁细胞专用）

I. 产品信息

目 录 号: AT101

规 格: 30T, 100T

保 存: 见“试剂盒组分”

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+)。

Accutase 是一种天然的酶，兼具蛋白水解酶和胶原酶的活性。但它比胰酶和胶原酶更有效，使用浓度更低，使之毒性更小、更温和。因此对细胞的损伤更小，可减少因消化处理带来的假阳性。即便长时间消化，也可保持 90%以上的细胞活力。适合于各种贴壁细胞、胚胎和神经元干细胞等较敏感的细胞的消化。

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。提供消化细胞更温和的 Accutase，减少假阳性。

注：对于自动调电压的流式细胞仪，如BD的C6，使用时建议先用 1X Binding Buffer 将 Annexin V-FITC 稀释5-10倍后再使用。

III. 试剂盒组分

规格 组分	30 T	100 T	储存条件
Annexin V-FITC	150 μ l	500 μ l	2 - 8℃，避光
PI	300 μ l	1000 μ l	2 - 8℃，避光
5 × Binding Buffer	5 ml	15 ml	2 - 8℃
Apoptosis Positive Control Solution	5 ml	5 ml	2 - 8℃
Accutase	100 ml	100 ml	-20℃，解冻后-20℃分装保存，或2 - 8℃可保存2个月

Product For Research Use Only AT101-DP1

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: order@liankebio.com



IV. 使用方法

一、细胞消化(不同类型的细胞, 需要用户优化方案)

1. 将Accutase 于4°C或室温解冻, 切勿放于 37°C解冻。
2. 小心吸去细胞培养基 (如培养上清中存在凋亡细胞, 则应收集)。
3. (可选) 无菌PBS 洗涤。
4. 加入适量解冻的 Accutase (不必温热至 37°C), 覆盖住细胞。根据细胞汇合度和密度情况, 通常在 T25细胞瓶中加入 2.5 - 5 ml Accutase。
5. 室温放置 5 - 10 分钟, 至多可长达 1 小时, 无需终止。
6. 当细胞开始圆缩, 用手掌轻拍培养瓶, 使细胞脱落。
7. 温和地吹散细胞, 收集细胞。

二、仪器参数调节

1. 收集 1×10^6 - 3×10^6 个细胞, 用预冷PBS 离心洗涤两次, 弃上清。
2. 加入 500 μ l 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 μ l Annexin V-FITC 或 10 μ l PI, 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。

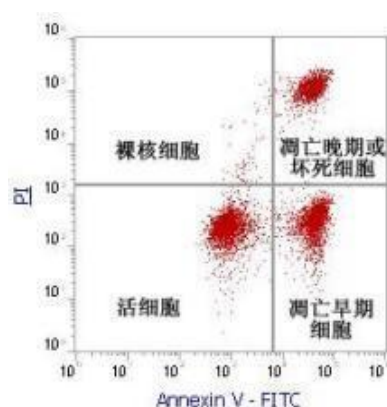
三、样本检测

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 μ l $1 \times$ Binding Buffer 重悬细胞。
3. 每管加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 10 μ 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



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. 更多流式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	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
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