



Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit (贴壁细胞专用)

I. 产品信息

目 录 号: AT104

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。

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。

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。

III. 试剂盒组分

组分 \ 规格	30 T	100 T	储存条件
Annexin V-PE	150 µl	500 µl	2 - 8℃, 避光
7-AAD	300 µl	1000 µl	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

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℃或室温解冻,切勿放于 37℃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℃),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。

Product For Research Use Only rev: AT104-BT1

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: order@liankebio.com



7. 温和地吹散细胞，收集细胞。

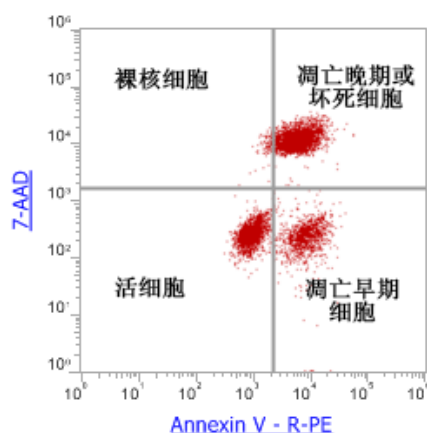
二、仪器参数调节

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 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-PE 或 10 μ l 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。

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-PE 和 10 μ l 7-AAD。
4. 轻柔涡旋混匀后，室温避光孵育 5 分钟。
5. 上机进行流式分析。

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
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