

## Annexin V- AF647 / PI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

规格 : 50 Tests

包装清单

序号	产品名称	包装
1	Annexin V-AF647 染色液	250 $\mu$ L
2	Annexin V Binding Buffer (10 $\times$ )	5.5 mL
3	碘化丙啶 (PI) 染色液	250 $\mu$ L
4	说明书	1 份

### 产品简介

诺梵生物自主研发的 Annexin V-AF647 / PI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒用于鉴定凋亡和坏死细胞。

Annexin V 是一种钙离子依赖性磷脂结合蛋白, 与磷脂酰丝氨酸 PS 有高度亲和力, 可通过细胞外侧暴露的 PS 与凋亡早期细胞膜结合, 将 Annexin V 标记荧光染料 AF647 利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡。

碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)可与双链 DNA 特异性结合, 并产生强烈的荧光, 正常情况下无法透过细胞膜。由于凋亡晚期或坏死细胞膜丧失完整性, PI 可进入细胞内对 DNA 进行染色, 与 Annexin V 搭配使用, 可区分处于不同凋亡时期的细胞。

### 产品使用说明

本试剂盒中 Annexin V Binding Buffer(10  $\times$ )为 10  $\times$ 浓缩液, 实验前用去离子水稀释成 1  $\times$ 工作液。

例如: 取 1 mL Annexin V Binding Buffer (10  $\times$ ), 加入去离子水定容至 10 mL 即可。

### 实验操作指南步骤

#### 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。

**注:**本品仅在悬浮培养的细胞中验证, 良好的细胞状态是实验的关键。贴壁生长的细胞用于凋亡检测时, 可能会因为胰酶消化、吹打等处理导致细胞的坏死或凋亡, 对实验结果可能存在不可控的影响, 请谨慎处理。

2. 取 1~5  $\times$  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  $\mu$ L 稀释的 1  $\times$ Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。

3. 细胞悬液中加入 5  $\mu$ L 的 Annexin V-AF647 和 5  $\mu$ L 的碘化丙啶(PI)染色液。

4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 15~20 min。

5. 反应完成后立即上机检测。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:** a)流式细胞仪检测请取阴性样本(如未经药物处理的活细胞)进行 Annexin V-AF647 和 PI 双染, 作为阴性对照; 另取阳性样本(如毒性药物处理的细胞)分别进行 Annexin V-AF647 和 PI 单染, 作为调节荧光补偿的单阳对照。

b)流式细胞仪检测时 Annexin V-AF647 可用 AF647 通道, PI 优先选 PerCP/Cy5.5 通道, 其次是 PE 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。

**注:**本品仅在悬浮培养的细胞中验证,良好的细胞状态是实验的关键。贴壁生长的细胞用于凋亡检测时,可能会因为胰酶消化、吹打等处理导致细胞的坏死或凋亡,对实验结果可能存在不可控的影响,请谨慎处理。

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  $\mu$ L 稀释的  $1 \times$  Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。

3 细胞悬液中加入 2.5  $\mu$ L 的 Annexin V-AF647 和 2.5  $\mu$ L 的碘化丙啶(PI)染色液。(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  $\mu$ L 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:** a)流式细胞仪检测请取阴性样本(如未经药物处理的活细胞)进行 Annexin V-AF647 和 PI 双染, 作为阴性对照; 另取阳性样本(如毒性药物处理的细胞)分别进行 Annexin V-AF647 和 PI 单染, 作为调节荧光补偿的单阳对照。

b)流式细胞仪检测时 Annexin V-AF647 可用 AF647 通道, PI 优先选 PerCP/Cy5.5 通道, 其次是 PE 通道。

#### 保存条件

2~8°C 可保存 1 年。Annexin V-AF647 和碘化丙啶 (PI) 染色液需要避光保存。

#### 注意事项

1. 保质期 1 年, 为获得最佳的使用效果, 请在 3~6 个月内使用, Annexin V-AF647 禁止冷冻保存。

2. 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。

3. 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。

4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

北京诺梵生物科技有限公司

主页: <http://www.novinbio.com/>

电话: 400-832-8698