



## Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒

### 产品描述

Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒提供了一种快速简便的方法, 通过标记早期凋亡细胞 (远红) 和坏死细胞 (红色), 用于检测细胞凋亡水平。产品可以使用流式细胞仪或其它荧光检测设备进行检测。

Annexin V-647 可以标记凋亡细胞。Annexin V 选择性结合磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, 简称 PS)。在细胞发生早期凋亡时, PS 会外翻到细胞表面, 即细胞膜外侧。用远红色荧光探针 647 标记的 Annexin V, 即 Annexin V-647, 可以结合外翻的磷脂酰丝氨酸, 从而检测细胞凋亡的重要特征。李记生物的 647 染料与普通荧光素相比, 荧光亮度更高, 且不受环境中 pH 的影响, 具有良好的光稳定性。

碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 是一种 DNA 结合染料, 它可以染色坏死细胞或凋亡晚期丧失细胞膜完整性的细胞的细胞核。PI 可以由 488,532 或 546 nm 的激光激发, 呈现红色荧光。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒	AC12L042	50T
Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒	AC12L043	100T

### 产品组分

组分	AC12L042 (50T)	AC12L043 (100T)
A. 1×Annexin V 结合缓冲液	50 mL	2* 50 mL
B. Annexin V-647	250 $\mu$ L	500 $\mu$ L
C. PI	500 $\mu$ L	1 mL

### 运输与保存

蓝冰运输。4°C避光保存, 有效期 24 个月。

### 光谱特性

Annexin V-647: Abs/Em = 650/665 nm

PI: Abs/Em = 535/617 nm (with DNA)

### 使用方法

下列实验方案以利用星形孢菌素诱导 Jurkat 细胞凋亡为例, 如果使用其他诱导剂和其他类型的细胞, 实验条件需要略作调整。

#### 1. 流式细胞检测

- 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品, 作为阴性对照。此外, 设定一组样品做单染, 用于调节补偿。
- 收集细胞。悬浮细胞: 300 g, 4°C离心 5 min 收集细胞; 贴壁细胞: 用不含 EDTA 的胰酶消化后 300 g, 4°C离心 5 min 收集细胞, 胰酶消化时间不宜过长, 以防引起假阳性。【注】: 用胰蛋白酶消化然后使



细胞在最佳细胞培养条件和培养基中恢复约 30 min, 然后再染色。胰蛋白酶消化会暂时破坏质膜, 允许 Annexin V 结合磷脂酰丝氨酸在细胞膜的细胞质表面上, 从而导致假阳性染色。

- (3) 用预冷的 PBS 洗涤细胞两次, 每次均在 300 g, 4°C 下离心 5 min, 收集  $1-5 \times 10^5$  个细胞并用 100 $\mu$ L 1 $\times$ 结合缓冲液重悬细胞。
- (4) 每管加入 4-5 $\mu$ L 的 Annexin V-647 和 5 $\mu$ L 的 PI 工作液。【注】: 我们推荐准备两管额外的流式管, 每管中只加入一种单染染料 (Annexin V-647 和 PI 各 1 管), 用于流式的补偿调节。
- (5) 室温避光孵育 10-15 min, 为避免影响细胞凋亡进程, 孵育过程可在冰上操作。
- (6) 每管加入 400 $\mu$ L 的 PBS 或 1 $\times$ 结合缓冲液, 尽快通过流式细胞仪检测细胞凋亡情况。Annexin V-647 可以由 647 nm 激光激发, 检测荧光发射光谱约在 647 nm 处 (APC 通道), PI 发射光谱约在 617 nm 处。

## 2. 荧光显微镜检测

对于悬浮细胞, 可参照流式细胞检测的方法进行具体操作。

- (1) 在盖玻片或载玻片小室中接种细胞。
- (2) 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品, 作为阴性对照。
- (3) 用 PBS 洗涤细胞。【注】: 细胞收集后如果不用 PBS 清洗, 可用含血清的培养基直接替代 Annexin V 结合缓冲液, 但是 Annexin V 的使用浓度需要重新优化。
- (4) 每 100  $\mu$ L 的 Annexin V 结合缓冲液中加入 5-25 $\mu$ L 的 Annexin V-647 和 5 $\mu$ L 的 PI。【注】: 最佳使用浓度由具体实验要求确定。
- (5) 向培养板中加入足量的染液以覆盖全部细胞, 室温避光孵育 15-30 min。为避免影响细胞凋亡进程, 孵育过程可在冰上操作, 但孵育时间至少延长至 30 min。
- (6) 用 1 $\times$ 结合缓冲液清洗细胞。
- (7) 将孵育有细胞的盖玻片置于载玻片上, 载玻片可提前加一滴 1 $\times$ 结合缓冲液; 对于培养在小室内的细胞, 可直接加入足量的 1 $\times$ 结合缓冲液覆盖细胞。
- (8) 使用合适的滤光片在荧光显微镜下观察细胞。Annexin V-647 可用 APC 适用的滤光片, PI 可用 Cy3 或者 Texas 滤光片。

## 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 荧光染料均存在淬灭问题, 保存和使用过程中请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。

## 相关产品推荐

EZ Trans 细胞转染试剂 (高效) (货号: AC04L092)

快速细胞冻存液 (无血清、无蛋白) (货号: AC05L033)