

Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit

Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL107A	Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒（增强型）	50 T

产品简介:

在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸（PS）只分布在细胞膜脂质双层的内侧，而在细胞凋亡早期，细胞膜中的磷脂酰丝氨酸（PS）由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 是一种分子量为 35~36kD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白，与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力，故可通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此 Annexin V 被作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。将 Annexin V 进行荧光素 FITC 标记，以标记了的 Annexin V 作为荧光探针，利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。

碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但对凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此将 Annexin V 与 PI 匹配使用，就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

本试剂盒可应用于培养细胞凋亡检测（不推荐用于检测组织样本）。

产品组分:

产品编号	产品名称	规格	储存条件
1	AnnexinV-FITC	250uL	2-8℃,避光
2	Propidium Iodide	250uL	2-8℃,避光
3	Binding Buffer	25 mL	2-8℃

使用方法:

- 1、悬浮细胞离心（2000rpm 离心 5min）收集；贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集（注：胰酶消化时间不易过长，否则容易引起假阳性）；
- 2、用 PBS 洗涤细胞二次（2000rpm 离心 5min）收集 $1\sim5 \times 10^5$ 细胞；
- 3、加入 500uL 的 Binding Buffer 悬浮细胞；
- 4、加入 5uL Annexin V-FITC 混匀后，加入 5uL Propidium Iodide，混匀；
- 5、室温、避光、反应 5~15min；
- 6、请在 1h 内，进行下述荧光显微镜或流式细胞仪的观察和检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



A. 荧光显微镜观察

- 1) 滴一滴上述染色后的细胞悬液于载玻片上，并用盖玻片盖上细胞；
- 2) 对于贴壁细胞来说，也可直接用盖玻片来培养细胞并诱导细胞凋亡；
 - 1、将细胞于盖玻片上生长，用适当的凋亡诱导剂诱导细胞凋亡，并设立阴性对照组；
 - 2、用 PBS 洗涤细胞两次；
 - 3、在 500uL 的 Binding Buffer 中加入 5uL Annexin V-FITC，5uL Propidium Iodide，混匀；
 - 4、将上述溶液滴加于盖玻片表面，使盖玻片表面均匀覆盖；
 - 5、避光、室温反应 5min。
- 6、将盖玻片倒置于载玻片上，于荧光显微镜下、双色滤光片（FITC 和罗丹明）观察。

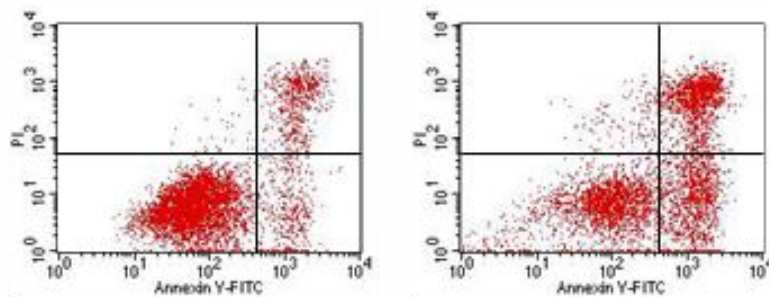
Annexin V-FITC 荧光信号呈绿色，PI 荧光信号呈红色。

B. 流式细胞仪分析

- 1) 用流式细胞仪检测，激发波长 $Ex=488\text{ nm}$ ；发射波长 $Em=530\text{ nm}$ 。
- 2) Annexin V-FITC 的绿色荧光通过 FITC 通道（FL1）检测；PI 红色荧光（流式 $Ex=488\text{nm}, Em\geq 630\text{nm}$ ）通过 FL2 或 FL3 通道检测，建议使用 FL3。
- 3) 荧光补偿调节：使用经凋亡诱导处理的正常细胞，作为对照进行荧光补偿调节去除光谱重叠和设定十字门的位置。

C. 实验范例

用凋亡诱导剂诱导 P388 细胞凋亡，在 37°C ， $5\%\text{CO}_2$ 培养箱培养 4~6h 后，参照说明书的操作方法进行检测，经流式细胞仪检测结果见下图。



对照

诱导剂处理

注意事项：

- 1、微量试剂取用前请离心收集。
- 2、Annexin V-FITC，Propidium Iodide（PI）避光保存及使用。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。





3、Propidium Iodide (PI) 有毒，操作时要戴手套。

4、本试剂盒适用于检测活细胞，流式细胞仪检测时，细胞数量不应低 1×10^5 ，不推荐用于检测组织样本。

5、推荐使用悬浮培养细胞。如果是贴壁细胞，需用不含 EDTA 的胰酶消化，如消化不当，可能引起假阳性，而用细胞刮子会造成细胞粘连成团，而影响检测。可将胰酶消化后细胞的保存在含 2%BSA 的 PBS 中，防止进一步的损伤。

6、细胞固定后可能导致荧光的淬灭，请不要固定样品。

7、因检测细胞的类型、凋亡诱导剂种类、使用的检测仪器不同，因而流式检测的荧光补偿也不同，因此建议每次检测均需使用未经凋亡诱导处理的细胞作为对照，进行荧光补偿的调节。

保存条件：

2-8℃ 避光保存，一年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

电话：400-600-4213

邮箱：techserv@labgic.com

