

Annexin V-APC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

Annexin V-APC/PI Apoptosis Detection Kit

Cat number: KGA1030, KGA1030-50, KGA1030-100

Store at 2-8°C for 12 months, protected from light

For Research Use Only(科研专用)

文件编码: K220804

一、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 APC 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-APC 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)。

二、产品组成

组分	KGA1030	KGA1030-50	KGA1030-100	储存条件
	20 assays	50 assays	100 assays	
AnnexinV-APC	100 μ L	250 μ L	500 μ L	2-8°C避光
PI 染液	100 μ L	250 μ L	500 μ L	2-8°C避光
Binding Buffer	10 mL	25mL	50mL	2-8°C

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

流式细胞仪、低速离心机、微量移液器 (注: 不建议使用荧光显微镜)

1.5m L Microtube、PBS、不含 EDTA 的胰酶消化液

四、注意事项

1. Annexin V-APC 组份建议按需分装冻存于-20°C, 避光保存及使用, 避免反复冻融。
2. Binding Buffer 组份不用时可放置于 4°C保存, 需要避光。
3. PI 为潜在致癌物, 操作时请采取防护措施, 穿防护服、戴手套等。

3. 微量试剂取用前请离心集液。

4. 本试剂盒适用于检测活细胞，流式细胞仪检测时，细胞数量不应低于 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，而用细胞刮刀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经凋亡诱导处理的细胞作为对照，进行荧光补偿的调节。

五、操作步骤

1. 细胞收集

1) 悬浮细胞：2000rpm，离心 5min 收集。

2) 贴壁细胞：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 $1 \sim 5 \times 10^5$ 细胞；

3. 加入 500 μ L 的 Binding Buffer 轻轻吹匀成单细胞悬液；

4. 加入 5 μ l Annexin V-APC 和 5 μ l PI 染液，轻轻吹匀；

5. 室温、避光、反应 5~10min；

6. 请在 1 hour 内，进行流式细胞仪的观察和检测。

7. 流式细胞仪分析

1) 用流式细胞仪检测，APC 激发波长 $Ex=633 \text{ nm}$ ；发射波长 $Em=660 \text{ nm}$ ，红色荧光，建议使用 FL4 通道检测；PI 激发波长 $Ex=488 \text{ nm}$ ；发射波长 $Em \geq 630$ ，通过 FL2 或 FL3 通道检测，建议使用 FL3。

2) 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。

六、凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

细胞凋亡

细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

细胞染色产品

亚细胞组分制备