

Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒

产品描述

AnnexinV-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 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。欣协生物的 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。

光谱特性

Annexin V-647: Abs/Em = 650/665 nm PI: Abs/Em = 535/617 nm (with DNA)

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	91-05-0003S	50T
Annexin V-647/PI 细胞凋亡检测试剂盒	91-05-0003L	100T

产品组分

产品编号	产品组成	包装规格
91-05-0003S	1×Annexin V 结合缓冲液	50 mL
	Annexin V-647	250 μL
	PI	500 μL
91-05-0003L	1×Annexin V 结合缓冲液	50 mL×2
	Annexin V-647	500 μL
	PI	1 mL

苏州欣协生物科技有限公司

电话：400-863-1188

网址：www.xinxiebio.com

邮箱：info@szxxbio.com

运输与保存

蓝冰运输。4℃避光保存，有效期 12 个月。

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

(1) 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。

(2) 收集细胞。悬浮细胞：300 g，4℃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℃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 30min，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 300g，4℃离心 5min，收集 $1-5 \times 10^5$ 个细胞并用 100μL 1×结合缓冲液重悬细胞。

(4) 每管加入 4-5μL 的 Annexin V-647 和 5μL 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 10-15min，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 400μL 的 PBS 或 1×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 647nm 激光激发，检测荧光发射光谱约在 647nm 处（APC 通道），PI 发射光谱约在 617nm 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，可以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 μ L 的 Annexin V 结合缓冲液中加入 5-25 μ L 的 Annexin V-647 和 5 μ 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。