

## Annexin V-FITC / PI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

货号: JX16-50T  
规格: 50 Assays

产品编号	产品名称	50 Assays	Storage
JX16-50T-1	Annexin V-FITC 染色液	250 $\mu$ L	2~8°C
JX16-50T-2	Annexin V Binding Buffer (10 $\times$ )	5.5 mL	2~8°C
JX16-50T-3	碘化丙啶 (PI) 染色液	250 $\mu$ L	2~8°C
	说明书	一份	

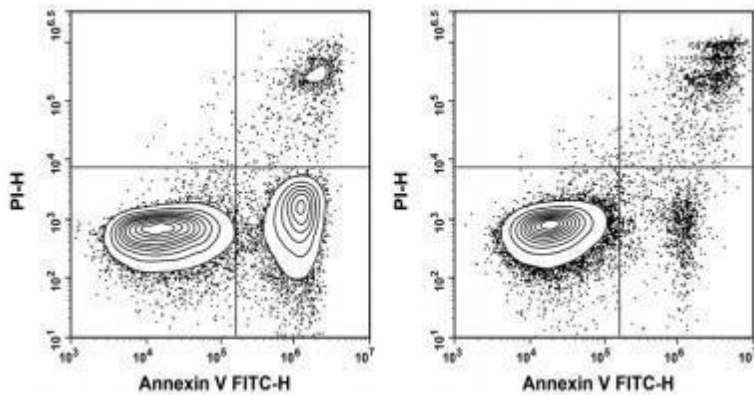
### 产品简介

GenXion® 自主研发的 Annexin V-FITC / 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 (phosphatidylserine, 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 Annexin V-FITC，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。

本试剂盒检测喜树碱诱导的 Jurkat 细胞凋亡效果如下图所示：



Jurkat 细胞用  $5\ \mu\text{M}$  喜树碱 (Camptothecin) (左) 或未加药 (右) 处理 4 h, 本试剂盒染色后, 流式细胞仪荧光检测。Annexin V-FITC 单阳细胞为早期凋亡细胞, Annexin V-FITC 和 PI 双阳细胞为坏死或晚期凋亡细胞, PI 单阳细胞为裸核细胞。

## 产品使用说明

本试剂盒中 JX16-50T-2 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,  $300\ \text{g}$  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,  $300\ \text{g}$  离心 5 min, 弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次, 离心后弃上清, 加入  $500\ \mu\text{L}$  稀释的  $1\times$  Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入  $5\ \mu\text{L}$  的 Annexin V-FITC 和  $5\ \mu\text{L}$  的 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-FITC 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-FITC 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-FITC 可用 FITC 通道, PI 优先选择 PerCP/Cy5.5 通道, 其次是 ECD 通道。

### 两步法

1. 细胞按照实验方案进行凋亡诱导,  $300\ \text{g}$  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,  $300\ \text{g}$  离心 5 min, 弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次, 离心后弃上清, 加入  $100\ \mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  的 Annexin V-FITC 和 2.5  $\mu\text{L}$  的 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  $\mu\text{L}$  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-FITC 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-FITC 和 PI 单染，作为调节荧光补偿的单阳对。  
b)流式细胞仪检测时 Annexin V-FITC 可用 FITC 通道，优先选择 PerCP/Cy5.5 通道，其次是 ECD 通道。

## 保存条件

Annexin V-FITC 和 PI 染色液需要避光保存。所有试剂 2-8 $^{\circ}\text{C}$  可保存 12 个月。

## 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-FITC 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。