

# Annexin V-APC/ PI 细胞凋亡检测试剂盒

## Annexin V-APC/PI Apoptosis Detection Kit

说明书修订日期: 2019.11.27

Cat number: KGA1030 - 20 assays  
KGA1030 - 50 assays  
KGA1030 - 100 assays

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

For Research Use Only (科研专用)

### 一、试剂盒说明

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、试剂盒组份

组份	Cat: KGA1030 20 assays	Cat: KGA1030 50 assays	Cat: KGA1030 100 assays	储存条件
AnnexinV-APC	100 $\mu$ L	250 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2-8°C 避光
PI 染液	100 $\mu$ L	250 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2-8°C 避光
Binding Buffer	10.0 mL	25 mL	50 mL	2-8°C

注: 1、Annexin V-APC 组份建议按需分装小份冻存于-20°C, 避免反复冻融;

2、PI 和 Binding Buffer 组份不用时可放置于 4°C 保存, PI 需要避光。

### 三、试剂盒以外自备仪器和试剂

流式细胞仪或荧光显微镜、低速离心机、微量移液器

1.5m L Microtube、载玻片、盖玻片 (荧光显微镜观察需用)、PBS、不含 EDTA 的胰酶消化液

### 四、使用注意事项

1. 微量试剂取用前请离心集液。
2. Annexin V-APC/PI 避光保存及使用。
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。
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  $1 \times 10^5$ , 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, 建议用不含 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, 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  $1\sim 5\times 10^5$  细胞；
3. 加入 500 $\mu$ L 的 Binding Buffer 悬浮细胞；
4. 加入 5 $\mu$ L Annexin V-APC 混匀后，加入 5  $\mu$ L PI 染液，混匀；
5. 室温、避光、反应 5~15min；
6. 请在 1 hour 内，进行流式细胞仪的观察和检测。

## 流式细胞仪分析

- 1) 用流式细胞仪检测，激发波长 633nm，最大发射波长 660 nm，Annexin V-APC 的红色荧光建议使用 FL4 通道检测；PI 红色荧光（流式 Ex=488nm, Em $\geq$ 630nm）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

- 人类肿瘤细胞株 鼠肿瘤细胞株 正常细胞株 肿瘤耐药细胞株
- 细胞提取物（RNA/DNA/蛋白） 细胞培养相关产品

### 细胞凋亡

#### 细胞凋亡研究试剂盒

- Annexin V-FITC/ EGFP/PE 细胞凋亡检测试剂盒
- TUNEL 凋亡原位检测系列试剂盒
- Caspase(2、3、6、8、9)系列细胞凋亡检测试剂盒
- 线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1） TRAP-PCR 端粒酶活性检测试剂盒 DNA Ladder 检测试剂盒

#### 凋亡诱导剂、抑制剂

#### 氧化应激损伤检测试剂盒

#### 细胞凋亡研究辅助试剂

#### 细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

凯基细胞周期检测试剂盒 MTT、XTT、WST-1、CCK-8、SRB 等系列细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

#### 细胞染色产品

活细胞/凋亡细胞/坏死细胞鉴别试剂盒（AO/EB 法, 荧光显微镜） 凯基细胞凋亡形态学检测试剂盒  
罗丹明 123、DAPI、PI、7-AAD、Hoechst 33258、EB、吖啶橙染色试剂盒

#### 亚细胞组分制备

- 细胞核、线粒体制备试剂盒  细胞悬液制备试剂盒（组织消化试剂盒）