



## Annexin V-FITC/PI apoptosis kit (C6 专用)

### I. 产品信息

目录号: AP101C	规格: 30T, 60T, 100T
保存: 2 - 8℃避光, 切勿冻存	效期: 一年
储存液: 含 0.09% NaN <sub>3</sub> 的磷酸盐缓冲液(pH7.2)	

### II. 背景简介

Annexin V(或 Annexin A5)为胞内蛋白膜联蛋白家族成员, 以钙依赖的方式与磷脂酰丝氨酸(PS)结合。PS 存在于正常细胞浆膜的内层, 但在凋亡早期, 膜不对称性丧失, PS 易位至细胞表面。荧光标记的 Annexin V 可与之特异性结合, 表明该细胞为凋亡细胞。本试剂盒仅需 15 分钟即可染色, 快速方便。

此凋亡试剂盒针对 BD 的 C6 仪器进行优化, 可方便调节补偿。

### III. 试剂盒组分

目录号 规格	AP101C-30	AP101C-60	AP101C-100
组分	30 T	60 T	100 T
Annexin V-FITC	150 μl	300 μl	500 μl
PI	300 μl	600 μl	1000 μl
5 × Binding buffer	5 ml	10 ml	15 ml
Apoptosis Positive Control Solution	5 ml	5 ml	5 ml

### IV. 使用方法

#### 一、仪器参数调节

1. 收集  $1 \times 10^6 - 3 \times 10^6$  个细胞, 用预冷 PBS 离心洗涤两次, 弃上清。
2. 加入 500 μl Apoptosis Positive Control Solution 重悬, 置冰上孵育 30 分钟。
3. 用预冷 PBS 离心洗涤, 弃上清。
4. 加入适量预冷  $1 \times$  Binding Buffer 重悬, 并加入数量相同且未经处理的活细胞与之混合。加入预冷  $1 \times$  Binding Buffer 补充至 1.5 ml, 等分成三管, 其中一管为空白对照管、两管为单染管。
5. 单染管分别加入 5 μl Annexin V-FITC 或 10 μl PI, 室温避光孵育 5 分钟。
6. 在流式细胞仪上, 用空白管调节 FSC、SSC 和荧光通道的电压, 并在此电压条件下, 用单染管调节荧光通道的补偿。

**注:** 某些将贴壁细胞处理为单个细胞的过程中会造成细胞膜损伤, 从而造成 Annexin V 假阳性。因此需要进行优化。可使用对细胞更温和的酶如 Accutase (目录号 AT001)处理贴壁细胞。

#### 二、样本检测

1. 按实验方案诱导凋亡。
2. 用预冷 PBS 离心洗涤, 收集  $1 - 10 \times 10^5$  个细胞(包括培养上清中的细胞)。用双蒸水稀释  $5 \times$  Binding Buffer 为  $1 \times$  工作液, 取 500 μl  $1 \times$  Binding Buffer 重悬细胞。
3. 每管加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI。
4. 轻柔涡旋混匀后, 室温避光孵育 5 分钟。
5. 根据实验方法, 进行流式分析(A)或荧光显微镜检测(B)。

Product For Research Use Only rev: AP101C-01

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: order@liankebio.com



### A. 流式分析

在流式细胞仪上, 通过 FITC 检测通道检测 Annexin V-FITC (Ex = 488 nm; Em = 530 nm)和通过 PI 检测通道(Ex = 535 nm; Em = 615 nm)检测 PI。

### B. 荧光显微镜检测

a. 将染色后的细胞置于载玻片上, 盖上盖玻片。

对于贴壁细胞, 将细胞直接种在盖玻片上。在步骤 3 的染色后, 将盖玻片反转盖到载玻片上。观察前可将细胞洗涤并用 2%福尔马林固定。(细胞必须在固定前孵育 Annexin V-FITC, 因为细胞固定后其细胞膜被破坏, 会使 Annexin V 与细胞膜内层的 PS 结合, 产生人为的假阳性。)

b. 使用荧光显微镜上的 FITC 和罗丹明通道进行观察。

被 Annexin V 结合的细胞显示浆膜上有绿色光环。丧失细胞膜完整性的细胞, 细胞核显示红色, 膜上有绿色光环。

## V. 结果示例

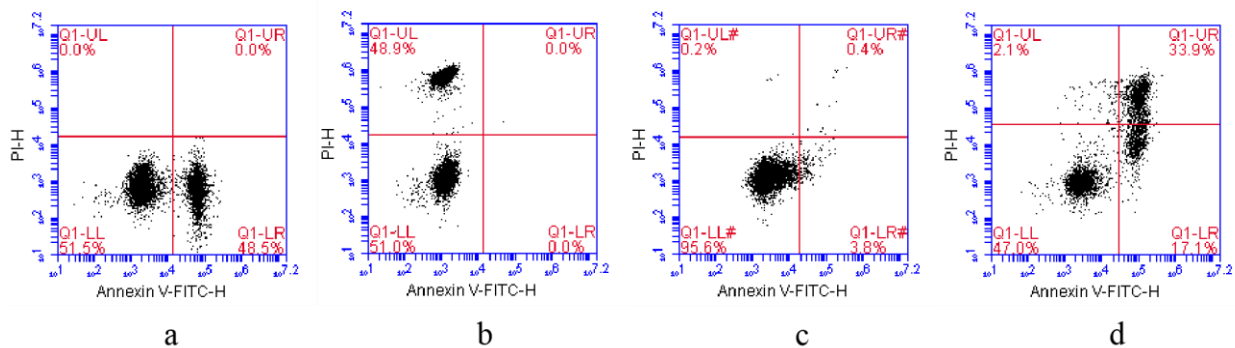


图. a.阳性质控液处理的 HL60 细胞, Annexin V-FITC 单染  
b.阳性质控液处理的 HL60 细胞, PI 单染  
c.未经喜树碱诱导的 HL60 细胞, Annexin V-FITC/PI 双染  
d.5  $\mu$ M 喜树碱诱导的 HL60 细胞, Annexin V-FITC/PI 双染

## VI. 注意事项

1. 请在使用本产品前仔细阅读说明书。本产品仅用于科研, 不可用于诊断。
2. 为了您的安全和健康, 请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。
3. 更多凋亡相关产品敬请关注联科生物网站或来电咨询。

## VII. 部分相关产品

目录号	产品名称	规格
AP101-100	Annexin V-FITC/PI apoptosis kit	100 T
AP104-100	Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit	100 T
AP105-100	Annexin V-APC/7-AAD apoptosis kit	100 T
AP107-100	Annexin V-APC/PI apoptosis kit	100 T
APO001	Direct TUNEL Apoptosis Assay Kit	50 T
AT101-100	Annexin V-FITC/PI apoptosis kit(贴壁细胞专用)	100 T
CCS012	Cell cycle staining Kit	50 T
MJ101	Mitochondria Staining Kit (JC-1)	125 T

Product For Research Use Only rev: AP101C-01

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: order@liankebio.com