



## Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

### Annexin V-FITC/PI Apoptosis Detection Kit

#### 包装清单

Cat No.	组分	包装规格-20T	包装规格-50T
MCK-0011	Annexin V-FITC	100 $\mu$ L	250 $\mu$ L
	Binding Buffer	12 mL	30 mL
	PI Stain	220 $\mu$ L	550 $\mu$ L
	说明书	1 份	1 份

#### 产品简介

Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒采用 FITC 标记的重组人 Annexin V 检测细胞凋亡。在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 位于细胞膜内侧；细胞凋亡早期，PS 会外翻到细胞膜外侧。Annexin V (膜联蛋白 V) 是一种  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性磷脂结合蛋白，可与 PS 特异性结合，因此 Annexin V 常作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。Annexin V 经 FITC 标记后可发绿色荧光，利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。此外，本试剂盒中的碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 染色液是一种不能穿透细胞膜的红色荧光染料，可对凋亡晚期细胞及坏死细胞染色。经 Annexin V-FITC 和 PI 联合染色后，正常细胞基本无荧光 (Annexin V-/PI-)，早期凋亡细胞呈绿色荧光 (Annexin V+/PI-)，晚期凋亡细胞及坏死细胞则呈绿色和红色荧光 (Annexin V+/PI+)。

#### 保存条件

-20°C 避光保存，有效期 1 年。避免反复冻融。

#### 注意事项

1. 荧光染料都存在淬灭的问题，染色后应尽快检测荧光强度，且整个实验过程尽量避光下进行。
2. 若使用胰酶处理贴壁细胞，应尽可能地去除胰酶，防止 Annexin V-FITC 降解从而导致染色失败。
3. 流式细胞仪检测时，若 Annexin V-FITC 单独染色组出现较多 PI 假阳性细胞，可用 PBS 将 Annexin V-FITC 稀释 3-10 倍后再进行检测。
4. Annexin V-FITC 和碘化丙啶 (PI) 均对人体有害，操作时务必小心。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明

1. 收集细胞：收集  $1-5 \times 10^5$  个细胞。
  - (1) **悬浮细胞**：1000g 离心 5min，弃上清。加入 1 mL 预冷的 PBS 轻轻重悬细胞沉淀，1000g 离心 5 min，弃上清，保留细胞沉淀。
  - (2) **贴壁细胞**：小心吸取细胞培养液保存备用。加入 PBS 洗涤后，加入适量胰酶消化液（尽量不含 EDTA，以免影响 Annexin V 和 PS 的结合）消化细胞。加入前面收集的培养液，轻轻吹打细胞，制成单细胞悬液，1000 g 离心 5 min，弃去上清。加入 1 mL 预冷的 PBS 轻轻重悬细胞沉淀，1000 g 离心 5 min，弃去上清，保留细胞沉淀。
2. 加入 195  $\mu$ L Binding Buffer，轻轻重悬细胞。
3. 加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC，轻轻混匀。
4. 加入 10  $\mu$ L PI Stain，轻轻混匀。
5. 室温下避光孵育 10-20 min。（注：孵育过程中可轻轻颠倒数次以加强染色效果。）
6. 检测与分析：
  - (1) **流式细胞仪检测**：用流式细胞仪检测荧光强度。

**注：**①流式检测时，Annexin V-FITC 最大激发波长为 488 nm，最大发射波长为 525 nm，在 FL1 通道检测；PI-DNA 最大激发波长为 535 nm，最大发射波长为 617 nm，在 FL2 或 FL3 通道检测。②建议设置三组对照：未染色组、PI 单染组及 Annexin V-FITC 单染组。
  - (2) **荧光显微镜检测**：1000 g 离心 5 min，弃去上清，加入 50-100  $\mu$ L Binding Buffer 轻轻重悬细胞沉淀，涂片后用荧光显微镜检测荧光强度。