Annexin V-PriFluor 647/PI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

货号: P-CA-203

规格：20Assays / 50Assays / 100Assays / 200Assays

产品名称	20Assays	50Assays	100Assays	200Assays	Storage
Annexin V-PriFluor 647 染色液	100 μL	250 μL	500 μL	1 mL	2~8°C，避光
Annexin V Binding Buffer(10×)	1.4 mL×2	5.5 mL	11 mL	11 mL×2	2~8°C
PI 染色液(50μg/mL)	100 μL	250 μL	500 μL	1 mL	2~8°C，避光
说明书				一份	

保存条件

2~8°C可保存 1 年。Annexin V-PriFluor 647 禁止冷冻保存。

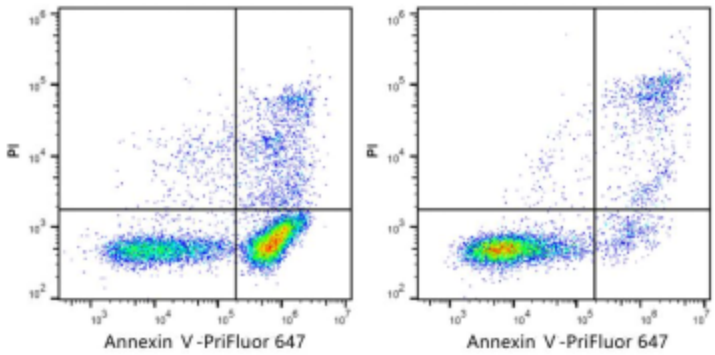
实验原理

Annexin V-PriFluor 647/PI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒，可用于检测悬浮细胞和贴壁细胞的凋亡。

Annexin V 是一种钙离子依赖性磷脂结合蛋白，与磷脂酰丝氨酸（PS）有高度亲和力。当细胞发生凋亡时，膜内侧的磷脂酰丝氨酸（PS）外翻到膜表面，而被荧光染料 PriFluor 647 标记的 Annexin V 结合，可通过流式细胞仪或荧光显微镜进行检测。

由于凋亡晚期或坏死细胞膜丧失完整性，而碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）可与双链 DNA 特异性结合并产生强烈的荧光，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 μM 喜树碱（Camptothecin）（左）或未加药（右）处理 4 h，本试剂盒染色后流式检测。Annexin V-PriFluor 647 单阳细胞为早期凋亡细胞，Annexin V-PriFluor 647 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。

试剂配制

1×Annexin V Binding Buffer：取 1 mL Annexin V Binding Buffer (10×)加入 9 mL 去离子水中混匀。

网站：www.procell.com.cn
电话：400-999-2100； 027-87287608
邮箱：sales@procell.com.cn
地址：湖北省武汉市高新大道858号生物医药产业园三期C4栋

实验操作

一步法

1. 细胞按照实验方案进行凋亡诱导，300 ×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。
2. 取 1~5 × 10^5 重悬的细胞，300 ×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 μL 稀释的 1 × Annexin V Binding Buffer 重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 5 μL 的 Annexin V-PriFluor 647 染色液和 5 μL 的 PI 染色液(50μg/mL)。
4. 轻柔涡旋混匀后，室温避光孵育 15~20 min。
5. 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：流式细胞仪检测时Annexin V-PriFluor 647可用FITC通道，PI优先选择ECD通道，其次是PE通道；如果样本有FITC通道的自发荧光，则选择PerCP/Cy5.5通道。

两步法

1. 细胞按照实验方案进行凋亡诱导，300 ×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。
2. 取 1~5 × 10^5 重悬的细胞，300 ×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 μL 稀释的 1 × Annexin V Binding Buffer 重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 2.5 μL 的 Annexin V-PriFluor 647 染色液和 2.5 μL 的 PI 染色液(50μg/mL)。（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 μL 稀释的 1 × 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：流式细胞仪检测时Annexin V-PriFluor 647可用FITC通道，PI优先选择ECD通道，其次是PE通道；如果样本有FITC通道的自发荧光，则选择PerCP/Cy5.5通道。

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。
2. 检测贴壁细胞时，需收集诱导凋亡后产生的悬浮细胞，并与后续收集的贴壁细胞一起检测。
3. 应尽量避免消化贴壁细胞带来的机械损伤。同时，胰酶的消化液中应尽量不含 EDTA，因为 EDTA 会影响 Annexin V 与磷脂酰丝氨酸的结合。
4. 如果使用含 EDTA 的胰酶，收集细胞后应充分清洗，确保 EDTA 被去除干净。
5. 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。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。