

Annexin V-Elab Fluor® Violet 500/PI Apoptosis Kit

Cat. No: E-CK-A235

Size: 20 Assays/50 Assays/100 Assays/200 Assays

Rev. V1.4

产品编号	产品名称	20 Assays	50 Assays	100 Assays	200 Assays	Storage
E-CK-A135	Annexin V-Elab Fluor® Violet 500 Reagent	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	2~8°C, shading light
E-CK-A151	Annexin V Binding Buffer(10×)	1.4 mL×2	5.5 mL	11 mL	11 mL×2	2~8°C
E-CK-A161	PI Reagent (50µg/mL)	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	2~8°C, shading light
	说明书				一份	

保存条件

2~8°C可保存1年。Annexin V-Elab Fluor® Violet 500 禁止冷冻保存。

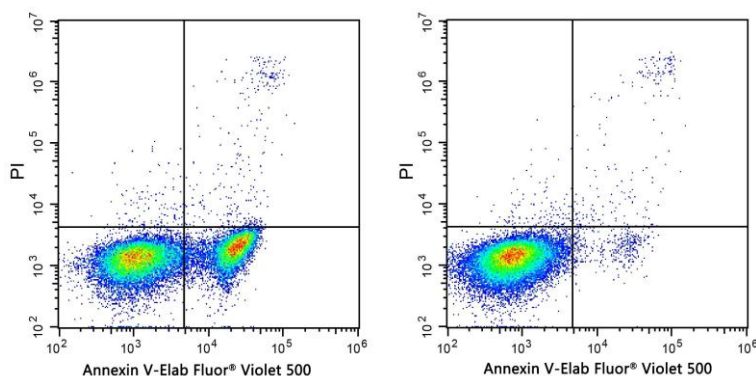
实验原理

Elabscience®自主研发的 Annexin V-Elab Fluor® Violet 500/PI Apoptosis Kit, 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 Elab Fluor® Violet 500 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 4h, 本试剂盒染色后流式检测。Annexin V-Elab Fluor® Violet 500 单阳细胞为早期凋亡细胞, Annexin V-Elab Fluor® Violet 500 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。

For Research Use Only

Thank you for your recent purchase.
If you would like to learn more about products, please visit www.elabscience.cn

Focus on lab research
Service for life science

实验操作



Annexin V 实验对照设置参考（微信扫码观看）。

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 $1\sim 5 \times 10^5$ 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-Elab Fluor® Violet 500 Reagent 和 5 μL 的 PI Reagent (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-Elab Fluor® Violet 500 可用 Pacific Green 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 $1\sim 5 \times 10^5$ 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-Elab Fluor® Violet 500 Reagent 和 2.5 μL 的 PI Reagent (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-Elab Fluor® Violet 500 可用 Pacific Green 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。

For Research Use Only

Thank you for your recent purchase.
If you would like to learn more about products, please visit www.elabscience.cn

Focus on lab research
Service for life science