

## Annexin V-FITC/7-AAD 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

货号：P-CA-202

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

产品编号	产品名称	20Assays	50Assays	100Assays	200Assay	Storage
P-CA-101	Annexin V-FITC 染色液	100 μL	250 μL	500 μL	1 mL	2~8℃.避光
P-CA-151	Annexin V Binding Buffer(10×)	1.4 mL×2	5.5 mL	11 mL	11 mL×2	2~8℃
P-CA-162	7-AAD 染色液	100 μL	250 μL	500 μL	1 mL	-5~-20℃, 避光
	说明书			一份		

### 保存条件

7-AAD 染色液适当分装后-5~-20℃可保存 1 年，其他试剂 2~8℃可保存 1 年。Annexin V-FITC 禁止冷冻保存。

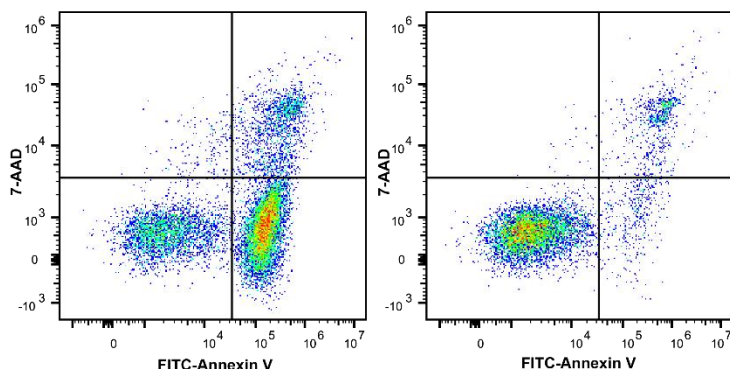
### 实验原理

Annexin V-FITC/7-AAD 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 FITC 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 7-氨基放线菌素 D (7-Amino Actinomycin D, 7-AAD) 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-FITC 单阳细胞为早期凋亡细胞，Annexin V-FITC 和 7-AAD 双阳细胞为坏死或晚期凋亡细胞，7-AAD 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。

## 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<sup>5</sup> 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-FITC 染色液和 5 μL 的 7-AAD 染色液 (100μg/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-FITC 可用 FITC 通道, 7-AAD 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<sup>5</sup> 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-FITC 染色液和 2.5 μL 的 7-AAD 染色液 (100μg/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-FITC 可用 FITC 通道, 7-AAD 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。

(本试剂产品仅供科学研究或进一步生产使用, 不可用于临床诊断或治疗)

网站: [www.procell.com.cn](http://www.procell.com.cn)

电话: 400-999-2100; 027-87287608

邮箱: [sales@procell.com.cn](mailto: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

