



Annexin V-IF647/PI Cell Apoptosis Detection Kit 50T

目录号：ABC1532

产品信息

产品名称

产品编号规格

ABC1532 50T

Annexin V-IF647/PI Cell Apoptosis Detection Kit

产品简介

细胞凋亡是发生在胚胎发育和维持组织稳态过程中的正常生理过程，伴随着许多形态学特征改变，其中细胞膜的丢失是细胞凋亡早期的特征之一。在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)只分布在细胞膜磷脂双分子层的内侧，但在细胞凋亡早期，PS会从脂膜的内侧翻转外侧，使其暴露于细胞外侧。

Annexin V (膜联蛋白V) 是一种Ca²⁺依赖的磷脂结合蛋白，对PS具有高度亲和力，会与暴露PS的细胞特异性结合，因此Annexin V被作为检测细胞早期凋亡的指标之一。碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)是一种核酸染料，它不能透过具有完整细胞膜的正常细胞和早期凋亡细胞，但能透过凋亡晚期和坏死细胞的细胞膜并将细胞核染色。

本产品通过将Annexin V用IF647荧光染料分子进行标记后作为检测探针，检测细胞的早期凋亡。同时以PI区分存活的细胞与坏死、晚期凋亡细胞。Annexin V-IF647和PI结合使用，活细胞呈现阴性染色 (Annexin V-/PI-)，早期凋亡细胞呈现单荧光阳性 (Annexin V+/PI-)，而晚期凋亡细胞和坏死细胞呈现双荧光阳性 (Annexin V+/PI+)。本试剂盒适用于流式细胞仪或荧光显微镜检测。

储存与运输

冰袋 (wet ice) 运输；2-8°C避光保存，12个月有效。

组成

Component Number	Component	ABC 1532-50T	ABC 1532-100T
ABC 1532-1	Annexin V-IF647	250 μL	2×250 μL
ABC 1532-2	Propidium Iodide (PI)	250 μL	2×250 μL
ABC 1532-3	1×Binding Buffer	25 mL	2×25 mL
产品说明书		1份	

操作步骤

1. 悬浮细胞：取细胞悬液，经500 g，4°C离心5 min收集细胞；

贴壁细胞：先收集细胞培养上清液。然后用不含EDTA的胰酶消化后，与细胞培养上清液合并，经500 g，4°C离心5 min收集细胞。胰酶消化时间不宜过长，以免过度消化引起假阳性。

2. 用预冷的PBS清洗细胞2次，每次500 g、4°C离心5 min收集细胞；

3. 用预冷的1×Binding Buffer轻柔重悬细胞，调整细胞浓度至1~5×10⁶/mL；

4. 取100 μL细胞悬液，加入5 μL Annexin V-IF647和5 μL PI，轻柔混匀，室温避光8-10 min；

5. 加入400 μL预冷的1×Binding Buffer，轻轻摇匀，1 h内用流式细胞仪或者荧光显微镜进行检测。

结果分析

1. 流式细胞仪检测

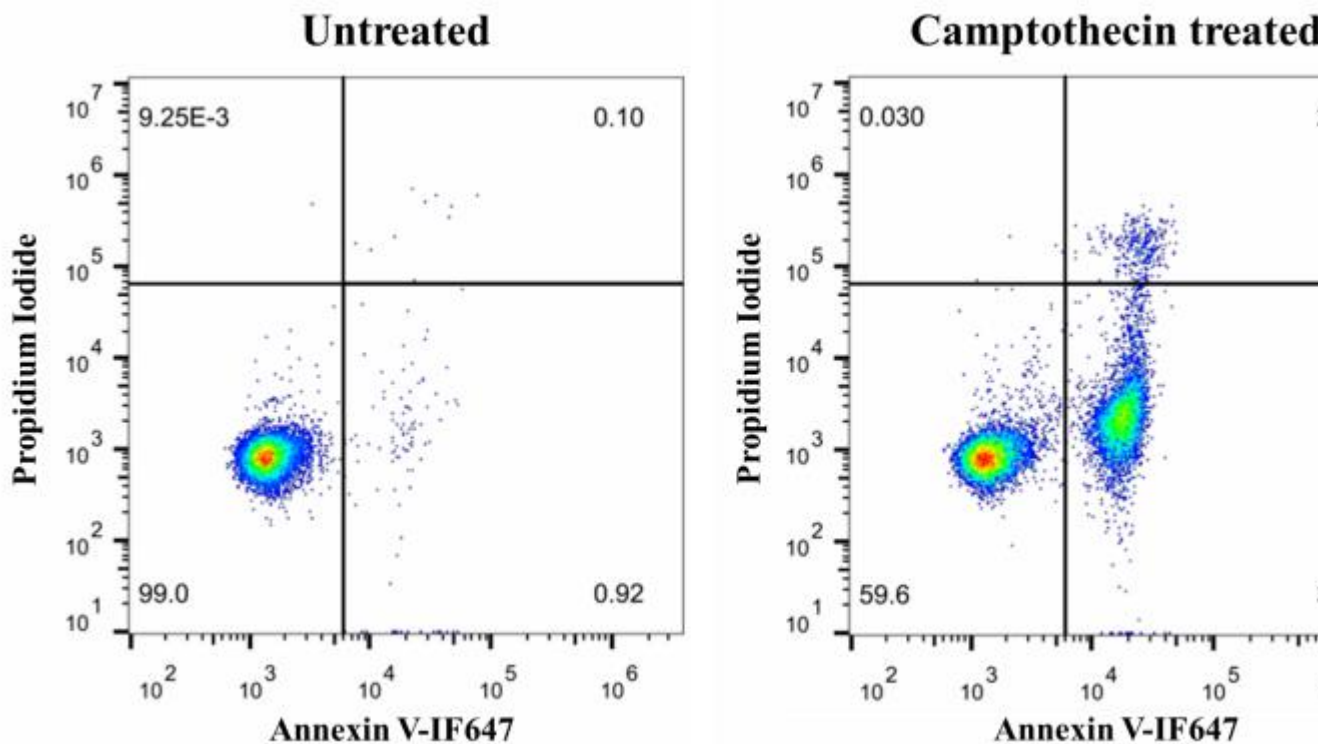
Aibisheng Biotechnology
(Dongguan) Co., LTD

Address: Room 101, Building 4, Changping Jewelry Cultural Industry Center, No. 568,
Huanchang North Road, Changping Town, Dongguan City, Guangdong Province
Website: <http://www.abcbio.top> Tel: 400-8309659

a. 流式细胞仪检测分析时选择合适的电压并调好光补偿，除实验组外建议设置阴性对照（不加任何标记物）用于调节电压、单标对照（只加Annexin V-IF647和只加PI）用于调节补偿；

b. 流式细胞仪检测分析参考实例：

用5 μ M Camptothecin诱导Jurkat T淋巴瘤细胞6 h，参照以上实验步骤，用流式细胞仪进行检测，结果如下图所示。



IF647最大激发波长为656 nm，最大发射波长为670 nm；PI-DNA复合物的最大激发波长为535 nm，最大发射波长为615 nm。经流式细胞仪相关分析软件绘制双色散点图，IF647位于横坐标，PI位于纵坐标。在典型实验中，活细胞无荧光，散点位于左下第一象限。处于早期凋亡细胞有较强的粉红色荧光，散点位于右下第二象限。晚期凋亡细胞、坏死细胞呈现粉红色、红色双重荧光，散点位于右上第三象限。

2. 荧光显微镜检测

在载玻片上加6 μ L Annexin V-IF647和PI双染的细胞悬液，盖上盖玻片，在荧光显微镜下用双色滤光片进行观察，Annexin V-IF647呈粉色荧光信号，PI呈红色荧光信号。

注意事项

1. 整个实验过程操作应尽量轻柔避免细胞破碎，影响实验结果。
2. 用PBS清洗细胞不可省略，同时也要尽可能的去掉残留的PBS。



Annexin V-IF647/PI Cell Apoptosis Detection Kit 50T

目录号：ABC1532

3. 使用胰酶消化细胞时，应小心操作，避免人为损伤细胞，并控制消化时间。消化时间过短，细胞需用力吹打才能脱落，容易造成细胞膜的机械损伤；若消化时间过长，细胞膜同样容易受到损伤。影响检测结果。另外不能使用含EDTA的胰酶，EDTA会影响Annexin V与PS的结合。
4. 贴壁细胞经凋亡刺激后，如有部分细胞漂浮，需同时收集细胞培养上清液及贴壁细胞合并染色，会使得结果更加准确。
5. Annexin V-IF647和PI对光敏感，操作时注意避光。反应结束后应尽快进行检测。
6. 实验过程中请穿实验服并戴一次性手套，避免污染，确保安全。

本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！

（产品包装升级中，以实物为准。）