

产品说明书

产品名称: Annexin V-APC and PI Apoptosis Kit

产品货号: BN16030

产品规格: 50T, 100T

产品内容:

| 组分 | 50 T | 100 T |
|----------------------|--------|---------|
| A. 1×Annexin V 结合缓冲液 | 500 mL | 50 mL×2 |
| B. Annexin V-APC | 250 μL | 500 μL |
| C. PI | 500 μL | 1mL |

储存条件

4°C避光冷藏, 请勿冻存。有效期见外包装。

光谱特性

Annexin V-APC: Ex/Em = 650/660 nm

PI: Ex/Em=535nm/617nm(with DNA)

产品介绍

Annexin V-APC/PI 细胞凋亡检测试剂盒是用红色荧光染料 APC (Allophycocyanin) 标记的 Annexin V 作为探针, 来检测细胞早期凋亡的发生, PI 用来检测晚期凋亡细胞或者坏死细胞。因此将 Annexin V-APC 与 PI 联合使用时, 可以区分出早调与晚调细胞。可用流式细胞仪或其他荧光检测设备进行检测。

使用方法

1. 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品, 作为阴性对照。此外, 设定一组凋亡处理的样品做单染, 用于调节补偿。
2. 收集细胞
悬浮细胞: 1000 rpm, 离心 5 min 收集细胞;
贴壁细胞: 用不含 EDTA 的胰酶消化后 1000 rpm, 离心 5

min 收集细胞, 胰酶消化时间不宜过长, 以防引起假阳性。对于特定的细胞, 如果细胞无法完全离心至管底, 可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。此外, 需小心吸除上清, 可以残留约 50 μL 左右的培养液, 以避免吸走细胞。

注: 用胰蛋白酶消化然后使细胞在最佳细胞培养条件和培养基中恢复约 30 min, 然后再染色, 从而避免假阳性。

3. 加入约 1 mL 4°C预冷的 PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。
4. 用 1×结合缓冲液重悬细胞, 调节其浓度为 $1-5 \times 10^6$ /mL。
5. 取 100 μL 的细胞悬液于 5 mL 流式管中, 加入 5 μL Annexin V-APC 和 5 μL PI, 混匀后室温避光孵育 10-15 分钟 (推荐额外准备两管凋亡细胞, 每管中只加入一种染料: Annexin V-APC 或 PI, 用于流式单染的补偿调节)。
6. 加入 400 μL 1× Annexin V 结合缓冲液, 混匀, 进行流式检测。Annexin V-APC 由 633 nm 激发, 选择 FL4 或 RL1 通道检测, PI 由 488 nm 激发, 选择 FL3 或 BL3 通道检测。

注意事项:

1. 荧光染料均存在淬灭问题, 保存和使用过程中请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。