

# 凋亡检测试剂盒

## Annexin V-FITC/PI apoptosis assay kit

目录号	规格	有效期
FAK012.20/FAK015.50/ FAK011.100	20 / 50 / 100 Tests	请见试剂盒标签

### 实验原理

在正常细胞中，磷脂酰丝氨酸（PS）只分布在细胞膜脂质双层的内侧，而在细胞凋亡早期，细胞膜中的磷脂酰丝氨酸（PS）由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V是一种分子量为35~36kD的Ca<sup>2+</sup>依赖性磷脂结合蛋白，与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力，故可通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此Annexin V被作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。将Annexin V进行FITC标记，以标记了的Annexin V作为荧光探针，利用流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但对凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此将Annexin V与PI匹配使用，就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

### 试剂盒组份

组分	FAK012.20	FAK015.50	FAK011.100	储存条件
浓缩结合缓冲液 4x (Binding Buffer 4x)	3ml	8ml	15ml	4°C
碘化丙啶溶液 (20ug/ml) (Propidium Iodide)	210ul	500ul	1ml	4°C避光
重组人 Annexin V-FITC	100ul	250ul	500ul	4°C避光

### 试剂盒中不提供需要自己准备的材料

1. 5毫升和10毫升刻度移液管
2. 5 μl~1000 μl可调节移液器及一次性吸头
3. 双蒸水或去离子水
4. PBS
5. 离心机
6. 流式细胞仪
7. 制备试剂用的烧杯、烧瓶、离心管等

### 实验染色方法

1. 准备细胞样品：
  - a. 悬浮细胞:1000rpm 离心 5 min 后弃去上清，收集细胞。
  - b. 贴壁细胞:用不含 EDTA 的胰酶消化后，1000rpm 离心 5 min 后弃上清，收集细胞。
2. 用去离子水将浓缩结合缓冲液稀释至 1x ( 3 ml 4x 浓缩结合缓冲液加 9 ml 去离子水 )，可根据实际需要量稀释；
3. 用预冷的 PBS 轻轻洗涤细胞两次，1000rpm 离心 5 min 后弃上清，收集细胞；
4. 用 200ul 结合缓冲液重新悬浮细胞并使其浓度为 2-5×10<sup>5</sup>/ml；
5. 取 195ul 细胞悬液加入 5ul Annexin V-FITC，轻轻混匀后室温避光孵育 10 分钟；
6. 用 200ul 结合缓冲液洗涤细胞，1000rpm 离心 5 min 后弃上清，再用 190ul 结合缓冲液重悬细胞，加入 10ul 浓度为 20ug/ml 的碘化丙啶溶液；轻轻混匀后上流式细胞仪 ( FACS ) 进行检测分析。

#### 技术支持

tech@neobioscience.com

#### 全国统一客服

4006-800-892

#### 订货热线

0755-26755892 (深圳)  
010-88594029 (北京)  
021-34613729 (上海)  
020-87615159 (广州)



## 注意事项

1. 细胞标记染色后请尽快上机检测，不宜长时间放置。
2. PI 有毒，操作时请戴手套，注意避免接触皮肤或眼睛，做好防护。
3. 本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

## 建议

对于初次检测的试验者为了调试机器的补偿和象限的分区，建议设立实验对照管：

- 1：未染色的细胞管
- 2：只用 Annexin V-FITC 染色的细胞管
- 3：只用 PI 染色的细胞管

## 部分参考文献

1. Lu L, Wang K, Lin C, et al. Constructing nanocomplexes by multicomponent self-assembly for curing orthotopic glioblastoma with synergistic chemo-photothermal therapy.[J]. Biomaterials, 2021.
2. Dai L, Li X, Zheng X, et al. TGF- $\beta$  blockade-improved chemo-immunotherapy with pH/ROS cascade-responsive micelle via tumor microenvironment remodeling[J]. Biomaterials, 2021.
3. Dai L, Li X, Yao M, et al. Programmable prodrug micelle with size-shrinkage and charge-reversal for chemotherapy-improved IDO immunotherapy[J]. Biomaterials, 2020.
4. Lv Y, Wang H, Li G, et al. Three-dimensional decellularized tumor extracellular matrices with different stiffness as bioengineered tumor scaffolds[J]. Bioactive Materials, 2021.
5. Liu Q, Zhang R, Zhang X, et al. Dopamine improves chemotherapeutic efficacy for pancreatic cancer by regulating macrophage-derived inflammations[J]. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2021.
6. Li W, Herkili A, Tang Y, et al. The transcription factor PBX3 promotes tumor cell growth through transcriptional suppression of the tumor suppressor p53[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2021.
7. Mao L H, Chen S Y, Li X Q, et al. LncRNA-LALR1 upregulates small nucleolar RNA SNORD72 to promote growth and invasion of hepatocellular carcinoma[J]. Aging, 2020.
8. Lu L, Li B, Li K, et al. Redox-responsive amphiphilic camptothecin prodrug nanoparticles for targeted liver tumor therapy[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2020.
9. Wang G, Guo S, Zhang W, et al. A Comprehensive Analysis of Alterations in DNA Damage Repair Pathways Reveals a Potential Way to Enhance the Radio-Sensitivity of Esophageal Squamous Cell Cancer[J]. Frontiers in Oncology, 2020.
10. Yu J, Wang W, Liu B, et al. Demethylzelastral inhibits proliferation and EMT via repressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Journal of Cancer, 2021.
11. Chen L, Ni Z, Cai Z, et al. The Mechanism Exploration of Follicular Fluids on Granulosa Cell Apoptosis in Endometriosis-Associated Infertility[J]. BioMed Research International, 2021.

### 技术支持

tech@neobioscience.com

### 全国统一客服

4006-800-892

### 订货热线

0755-26755892 (深圳)  
010-88594029 (北京)  
021-34613729 (上海)  
020-87615159 (广州)