

(本试剂仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

Annexin V-APC / 7-AAD 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

货号：E-CK-A218

规格：20 T / 50 T / 100 T / 200 T

产品编号	产品名称	20 T	50 T	100 T	200 T	Storage
E-CK-A117	Annexin V-APC 染色液	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	2~8°C
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-A162	7-AAD 染色液	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	-20°C
说明书				一份		

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

全国免费电话 400-9627-365
销售部电话 027-65022280, 027-87854967
技术部电话 027-65521719
电子邮箱（销售） Perry@elabscience.cn
电子邮箱（技术） Flow@elabscience.cn
QQ 客服 800110755
网址 www.elabscience.cn

联系时请提供产品货号(见标签)，以便我们更高效地为您服务。

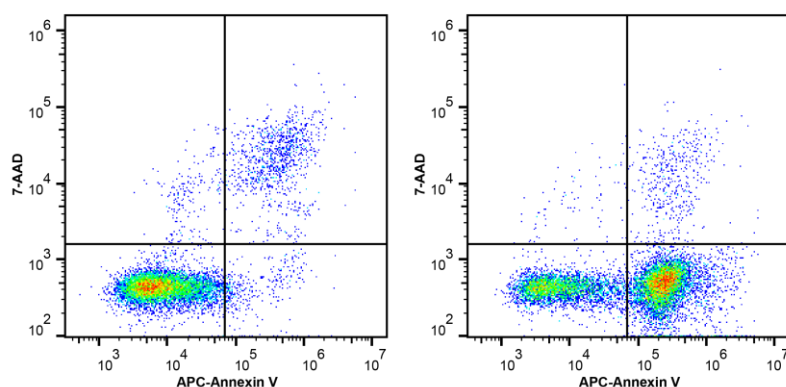
产品简介

Elabscience®自主研发的 Annexin V-APC / 7-AAD 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒用于鉴定凋亡和坏死细胞。

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，可通过细胞外侧暴露的 PS 与凋亡早期细胞膜结合，将 Annexin V 标记荧光染料 APC 利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡。

7-AAD 可与双链 DNA 特异性结合，并产生强烈的荧光，正常情况下无法透过细胞膜。由于凋亡晚期或坏死细胞膜丧失完整性，7-AAD 可进入细胞内对 DNA 进行染色，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 $1 \mu\text{M}$ 喜树碱 (Camptothecin) (右) 或未加药 (左) 处理 4 h，本试剂盒染色后，流式细胞仪荧光检测。Annexin V-APC 单阳细胞为早期凋亡细胞，Annexin V-APC 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。

产品使用说明

本试剂盒中 E-CK-A151 Annexin V Binding Buffer(10 ×) 为 10 × 浓缩液，实验前用去离子水稀释成 1 × 工作液。

例如：取 1 mL Annexin V Binding Buffer (10 ×)，加入去离子水定容至 10 mL 即可。

实验操作指南步骤

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 洗涤细胞一次，轻轻重悬细胞并计数。
注：本品仅在悬浮培养的细胞中验证，良好的细胞状态是实验的关键。贴壁生长的细胞用于凋亡检测时，可能会因为胰酶消化、吹打等处理导致细胞的坏死或凋亡，对实验结果可能存在不可控的影响，请谨慎处理。
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 工作液重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 5 μL 的 Annexin V-APC 和 5 μL 的 7-AAD 染色液。
4. 轻柔涡旋混匀后，室温避光孵育 15~20 min。
5. 反应完成后立即上机检测。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：a)流式细胞仪检测请取阴性样本（如未经药物处理的活细胞）进行 Annexin V-APC 和 7-AAD 双染，作为阴性

对照；另取阳性样本（如毒性药物处理的细胞）分别进行 Annexin V-APC 和 7-AAD 单染，作为调节荧光补偿的单阳对照。

b)流式细胞仪检测时 Annexin V-APC 可用 APC 通道，7-AAD 可用 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。

注：本品仅在悬浮培养的细胞中验证，良好的细胞状态是实验的关键。贴壁生长的细胞用于凋亡检测时，可能会因为胰酶消化、吹打等处理导致细胞的坏死或凋亡，对实验结果可能存在不可控的影响，请谨慎处理。

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 μ L 稀释的 $1 \times$ Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。
3. 细胞悬液中加入 2.5 μ L 的 Annexin V-APC 和 2.5 μ L 的 7-AAD 染色液。（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 μ L 稀释的 $1 \times$ 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：a)流式细胞仪检测请取阴性样本（如未经药物处理的活细胞）进行 Annexin V-APC 和 7-AAD 双染，作为阴性对照；另取阳性样本（如毒性药物处理的细胞）分别进行 Annexin V-APC 和 7-AAD 单染，作为调节荧光补偿的单阳对照。

b)流式细胞仪检测时 Annexin V-APC 可用 APC 通道，7-AAD 可用 PerCP/Cy5.5 通道。

保存条件

Annexin V-APC 和 7-AAD 染色液需要避光保存。7-AAD 染色液适当分装后 -20°C 可保存 1 年，其他试剂 2~8°C 可保存 1 年。

注意事项

1. 保质期 1 年，为获得最佳的使用效果，请在 3~6 个月内使用，Annexin V-APC 禁止冷冻保存。
2. 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。
3. 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。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。