

(本试剂仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

## Annexin V-PE/Cyanine5.5 / DAPI 荧光双染细胞凋亡检测试剂盒

货号：E-CK-A266

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

产品编号	产品名称	20 Assays	50 Assays	100 Assays	200 Assays	Storage
E-CK-A125	Annexin V-PE/Cyanine5.5 染色液	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	2-8°C
E-CK-A151	Annexin V Binding Buffer (10 ×)	1.4 mLx2	5.5 mL	11 mL	11 mLx2	2-8°C
E-CK-A163	DAPI 染色液	100 µL	250 µL	500 µL	1 mL	2-8°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](mailto:Perry@elabscience.cn)  
电子邮箱（技术） [Flow@elabscience.cn](mailto:Flow@elabscience.cn)  
QQ 客服 800110755  
网址 [www.elabscience.cn](http://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。

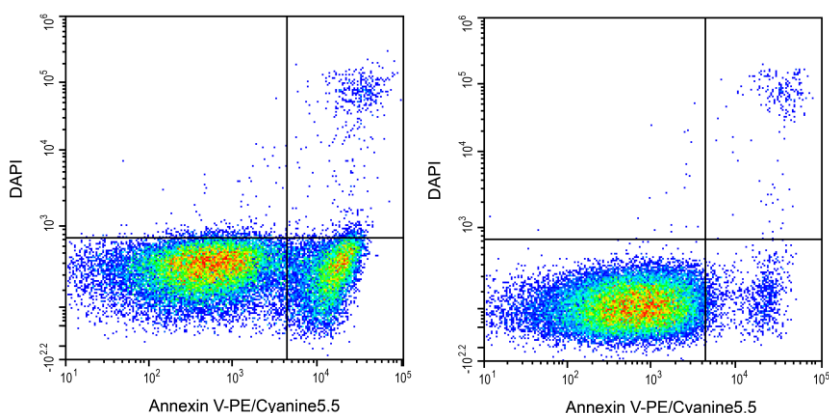
## 产品简介

Elabscience®自主研发的 Annexin V-PE/Cyanine5.5 / DAPI 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 PE/Cyanine5.5，利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡。

4',6-二脒基-2-苯基吲哚二盐酸盐 (4',6-Diamidino-2-Phenylindole, DAPI) 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，DAPI 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 5  $\mu$ M 喜树碱 (Camptothecin) (左) 或未加药 (右) 处理 4 h，本试剂盒染色后，流式细胞仪荧光检测。Annexin V-PE/Cyanine5.5 单阳细胞为早期凋亡细胞，Annexin V-PE/Cyanine5.5 和 DAPI 双阳细胞为坏死或晚期凋亡细胞，DAPI 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  $\times$ )为 10  $\times$ 浓缩液，实验前用去离子水稀释成 1  $\times$ 工作液。

例如：取 1 mL Annexin V Binding Buffer (10  $\times$ )，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 1~5  $\times$  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  $\mu$ 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 5  $\mu$ L 的 Annexin V-PE/Cyanine5.5 和 5  $\mu$ L 的 DAPI 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-PE/Cyanine5.5 和 DAPI 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-PE/Cyanine5.5 和 DAPI 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-PE/Cyanine5.5 可用 PerCP/Cy5.5 通道，DAPI 优先选 DAPI 通道，其次是 Pacific Blue 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  $\mu$ 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  $\mu$ L 的 Annexin V-PE/Cyanine5.5 和 2.5  $\mu$ L 的 DAPI 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  $\mu$ 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-PE/Cyanine5.5 和 DAPI 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 PE/Cyanine5.5 和 DAPI 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-PE/Cyanine5.5 可用 PerCP/Cy5.5 通道，DAPI 优先选 DAPI 通道，其次是 Pacific Blue 通道。

## 保存条件

2~8° C 可保存 1 年。Annexin V-PE/Cyanine5.5 和 DAPI 染色液需要避光保存。

## 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-PE/Cyanine5.5 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。