

Annexin V-PE/7-AAD Apoptosis detection Kit

Annexin V-PE/7-AAD细胞凋亡检测试剂盒

产品编号：MA0429 规格：50T/100T

产品内容

产品组成	MA0429-50T	MA0429-100T
Annexin V-PE	250μl	500μl
7-AAD	500μl	1ml
Binding Buffer(10x)	25ml	50ml
说明书	1 份	1 份

产品简介

本试剂盒用于检测细胞凋亡早期的发生，其中 Annexin V 为胞内蛋白膜联蛋白家族成员，以钙离子依赖的方式选择性与磷脂酰丝氨酸(PS)结合。

PS 正常分布在细胞膜内侧，即与细胞浆相邻的一侧。在细胞发生凋亡的早期，不同类型的细胞都会把 PS 外翻到细胞膜外侧。用带有 PE 标记的 Annexin V，即 Annexin V-PE，就可以通过流式细胞仪或荧光显微镜检测到 PS 外翻这一细胞凋亡的重要特征。

7-氨基放线菌素 D (7-AAD) 是一种非浸入性染料，可以用来检测无活性的细胞。它不能通过正常质膜，随着细胞凋亡、细胞死亡过程，质膜对 7-AAD 的通透性逐渐增加。染料一旦进入细胞，它将结合到细胞内 DNA 分子上，在合适波长激发光的激发下发出明亮的红色荧光。7-AAD 同 PI 有着相似的荧光特性，但其发射波谱较 PI 窄，对其他检测通道的干扰更小，在多色荧光分析中是 PI 的最佳替代品，可与 Annexin V-FITC/PE 联合使用。

将 Annexin V-PE 与 7-AAD 联合使用时，7-AAD 被排除在活细胞(Annexin V-/7-AAD-) 和早期凋亡细胞(Annexin V+/7-AAD-) 外，而晚期凋亡细胞和坏死细胞同时被 PE 和 7-AAD 结合染色呈现双阳性 (Annexin V+/7-AAD+)。

PE 最大吸收波长为 565nm，发射波长为 575nm。7-AAD 可被 488 nm 氩离子激光激发，发射波长为 647nm。

保存条件

2-8°C避光保存，一年有效。Annexin V-PE不可冷冻。

操作步骤

1. 样品染色

- 1) 将 Binding Buffer (10×) 稀释成 1×Binding buffer 工作液备用 (1ml Binding Buffer (10×) 需加入 9ml 无菌去离子水)。
- 2) 对于悬浮细胞, 500-1000g 离心 5min 收集细胞。
对于贴壁细胞, 要用不含 EDTA 的胰酶消化细胞, 胰酶消化时间不宜过长或过短, 最好是在轻轻吹打可以使贴壁细胞吹打下来时, 加入细胞培养液, 将细胞轻轻吹打下来, 转移到离心管内, 500-1000g 离心 5min 收集细胞。
- 3) 收集细胞后, 加入预冷 PBS 溶液轻摇或用移液器轻柔吹打洗涤, 离心收集细胞, 共洗涤两次。
- 4) 在细胞沉淀中加入 1×Binding buffer 工作液, 重悬细胞, 使细胞浓度达到 1×10^6 cell/ml。
- 5) 吸取 100μl 细胞悬液 (细胞总数为 1×10^5 cell) 至一新管中, 加入 5μl Annexin V-PE 和 5-10 μl 7-AAD, 轻轻混匀, 室温避光孵育 15min。

2. 样品检测

流式细胞仪检测:

染色孵育后, 每管加入 400μl 1×Binding Buffer 工作液, 混匀后使用流式细胞仪检测 (1 小时内检测)。

建议设置正常细胞、7-AAD 单染和 Annexin V-PE 单染 3 个对照组, 正常细胞组可作为荧光补偿调节去除光谱重叠和设定十字门的位置。若十字门的位置不易设定, 可采用经凋亡诱导的细胞进行设定。结果可用 CellQuest 等软件进行分析, 绘制双色散点图 (two-color dot plot), PE 为横坐标, 7-AAD 为纵坐标。

注意事项

- 1、可立式离心管内试剂在开盖前请短暂离心, 将盖内壁上的液体甩至管底, 避免开盖时液体洒落。
- 2、Annexin V-PE 和 7-AAD 是光敏物质, 在保存与操作时请注意避光。
- 3、Annexin V 是 Ca 依赖的蛋白, 所以不能加入 EDTA, 防止 EDTA 融合了 Ca 离子, 从而



0411-62910999 www.meilune.com
大连博格林生物科技有限公司
Dalian Bergolin Biotechnology Co., Ltd

影响 Annexin V，进而影响结果。

4、在细胞洗涤的最后一步，请尽量将上清弃净，以免 PBS 残留影响实验结果。

5、为获得准确试验结果，建议样品在染色后 1 小时内进行分析。

6、为了您的安全和健康，请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。

Welcome
to meilunbio

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品用途。