

## Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

### Annexin V-FITC/PI Apoptosis Detection Kit

Cat number: KGA1102-10/KGA1102-20/KGA1102-50/KGA1102-100

Store at 2-8°C for 12 months, protected from light

For Research Use Only

Version: K240810

#### 一、产品简介

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 35-36 kD 的  $Ca^{2+}$  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 进行荧光素 FITC 标记，以标记了的 Annexin V 作为荧光探针，利用荧光显微镜或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-FITC 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。

本试剂盒可应用于培养细胞的凋亡检测（不推荐用于检测组织样本）。

#### 二、产品组成

组分	KGA1102-10	KGA1102-20	KGA1102-50	KGA1102-100	储存条件
	10 tests	20 tests	50 tests	100 tests	
Annexin V-FITC	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	250 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2-8°C，避光
Propidium Iodide	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	250 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2-8°C，避光
Binding Buffer	5 mL	10 mL	25 mL	50 mL	2-8°C

#### 三、试剂盒以外自备仪器和试剂

1.5 mL Microtube (KGN2301-10)

PBS (KGL2206-500、KGL2210-500)

不含 EDTA 的胰酶消化液 (KGL2103-100、KGL2104-100)

流式细胞仪、荧光显微镜、低速离心机、微量移液器

#### 四、注意事项

1. 微量试剂取用前请离心集液。
2. Annexin V-FITC, Propidium Iodide (PI) 避光保存及使用。
3. Propidium Iodide (PI) 有毒，操作时请戴手套。
4. 本试剂盒适用于检测活细胞，流式细胞仪检测时，细胞数量不应低于  $1 \times 10^5$  个/mL，**不推荐用于检测组织样本。**

5. **贴壁细胞，需用不含 EDTA 的胰酶消化**，如消化不当，可能引起假阳性，而用细胞刮刀会造成细胞粘连成团，影响检测。可将胰酶消化后细胞的保存在含有 2% (w/v) BSA 的 PBS 中，防止进一步的损伤。
6. 细胞固定后可能导致荧光的淬灭，请不要固定样品。
7. 因检测细胞的类型、凋亡诱导剂种类、使用的检测仪器不同、设置参数也不同，建议每次检测均需使用经凋亡诱导处理的细胞作为对照，进行荧光补偿的调节。

## 五、操作步骤

### 对于流式操作检测

1. 细胞收集
  - a. 悬浮细胞：300×g 离心力，离心 5 min 收集；
  - b. 贴壁细胞：贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集（注：胰酶消化时间不宜过长，否则容易引起假阳性）；
2. 用 PBS 洗涤细胞 2 次（300×g，离心 5 min）收集 1-5×10<sup>5</sup> 个细胞；
3. 加入 500 μL 的 Binding Buffer 轻轻吹匀成单细胞悬液；
4. 加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL Propidium Iodide，轻轻混匀；
5. 室温、避光条件下，反应 5-10 min；
6. 请在 1 h 内，进行流式细胞仪的观察和检测；
7. 流式细胞仪分析
  - a. 用流式细胞仪检测，Annexin V-FITC (Ex=488 nm, Em=530 nm) 的绿色荧光通过 FITC 通道 (FL1) 检测；PI 红色荧光(Ex=488 nm, Em≥630 nm)通过 PE 通道 (FL2 或 FL3) 检测。
  - b. 荧光补偿调节：使用经诱导处理的凋亡细胞，作为对照进行荧光补偿调节去除光谱重叠和设定十字门的位置。

### 对于荧光显微镜检测

1. 选择 24 孔板或 48 孔板进行细胞培养和处理；
2. 染色前，使用多孔板离心机 300×g，离心 5 min；
3. 去除细胞培养液，加入 PBS 洗涤 1 次；
4. 根据样本数，配制染色工作液：在 1.5 mL EP 管中，加入 500 μL Binding Buffer、5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL Propidium Iodide，混匀（500 μL 为例）；
5. 将工作液加入孔板中（12 孔板每孔加 500 μL、24 孔板每孔加 200 μL、96 孔板每孔加 100 μL），室温避光孵育 20 min；
6. 即刻在荧光显微镜下观察，绿色荧光为 Annexin V-FITC、红色荧光为 Propidium Iodide。

## 六、实验范例

### 1. 流式检测

使用 DDP (20 μM) 诱导人慢性髓系白血病 K562 细胞 48 h，300×g 离心 5 min，收集细胞，参照说明书的操作方法进行检测，经流式细胞仪检测结果见图 1。

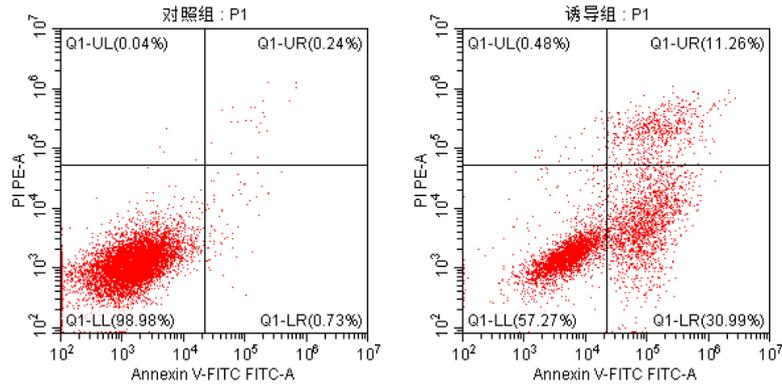


图 1. K562 细胞用本试剂盒染色后流式细胞仪检测细胞凋亡的效果图。K562 细胞未经处理或 DDP (20  $\mu\text{M}$ ) 作用 48 h 后, 用本试剂盒染色, 然后用流式细胞仪进行细胞的凋亡检测; (左) 未诱导凋亡的对照组; (右) DDP 诱导组。从图中可以看出, 与对照组相比, K562 细胞经过 DDP (20  $\mu\text{M}$ ) 处理后, 其 Annexin V-FITC 染色阳性/PI 染色阴性的细胞 (早期凋亡细胞), 明显增加(右下象限), Annexin V-FITC 和 PI 染色双阳性的细胞 (晚期细胞), 也有所增加(右上象限)。

## 2. 荧光显微镜检测

使用 DDP (10  $\mu\text{M}$ ) 诱导 HepG2 细胞 48 h, 参照说明书的操作方法进行检测, 经荧光显微镜检测结果见图 2。

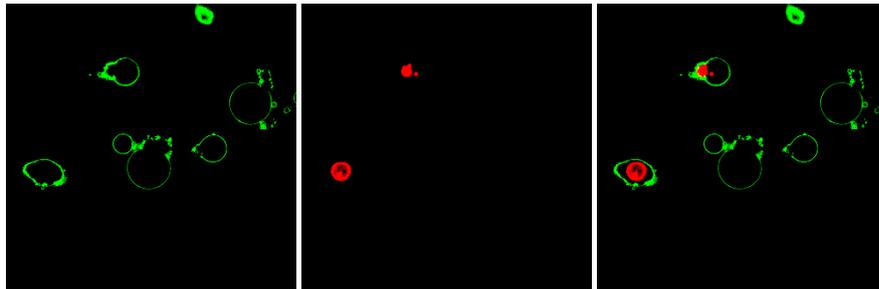


图 2. HepG2 细胞用本试剂盒染色后荧光显微镜检测细胞凋亡的效果图。HepG2 细胞经 DDP (10  $\mu\text{M}$ ) 作用 48 h 后, 用本试剂盒染色, 然后用荧光显微镜检测; (左) 绿色 FITC 通道; (中) 红色 PI 通道; (右) 合并视野。图中绿色荧光为 Annexin V-FITC 染色阳性细胞, 红色荧光为碘化丙啶染色阳性细胞。仅被绿色荧光染色的为早期凋亡细胞, 被绿色和红色荧光双染的是晚期凋亡细胞。

## 七、相关产品

产品目录号	产品名称	规格
KGA1101-100	Annexin V-EGFP/PI双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1102-100	Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1103-100	Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1104-100	Annexin V-PE/7-AAD双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1105-100	Annexin V-APC细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1106-100	Annexin V-APC/7-AAD双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1107-100	Annexin V-APC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1108-100	Annexin V-kFluor488/PI双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1109-100	Annexin V-kFluor647/PI双染细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1110-100	Annexin V-APC/SYTOX Green 细胞凋亡检测试剂盒	100 tests
KGA1501-100	Annexin V-FITC Reagent	100 $\mu\text{L}$ (20 tests)
KGA1502-100	Annexin V-EGFP Reagent	100 $\mu\text{L}$ (20 tests)
KGA1503-20	Annexin V-PE Reagent	20 $\mu\text{L}$ (20 tests)
KGA1504-100	Annexin V-APC Reagent	100 $\mu\text{L}$ (20 tests)
KGA1505-10	Binding Buffer (Annexin V系列配套使用)	10 mL (20 tests)

## 八、使用产品发表的文献

1. Gu J, Huang W, Wang X, et al. Hsa-miR-3178/RhoB/PI3K/Akt, a novel signaling pathway regulates ABC transporters to reverse gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21(1): 112.IF=27.401
2. Jin Y, Liu Z, Li Z, et al. Histone demethylase JMJD3 downregulation protects against aberrant force-induced osteoarthritis through epigenetic control of NR4A1[J]. *International Journal of Oral Science*, 2022, 14(1): 34.IF=24.897
3. Liu D, He H, Kong F, et al. A versatile metal–organic nanoplatform in combination with CXCR4 antagonist and PD-L1 inhibitor for multimodal synergistic cancer therapy and MRI-guided tumor imaging[J]. *Nano Today*, 2022, 47: 101689.IF=18.962
4. Guo Y, Wang S Z, Zhang X, et al. In situ generation of micrometer-sized tumor cell-derived vesicles as autologous cancer vaccines for boosting systemic immune responses[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 6534.IF=17.694
5. Wang J, Huang Z, Ji L, et al. SHF Acts as a Novel Tumor Suppressor in Glioblastoma Multiforme by Disrupting STAT3 Dimerization[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(26): 2200169.IF=17.521
6. Chen W, Tan Q, Guo M, et al. Tumor cell-derived microparticles packaging monocarboxylate transporter4 inhibitor fluvastatin suppress lung adenocarcinoma via tumor microenvironment remodeling and improve chemotherapy[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 451: 138972.IF=16.744
7. Zhao H, Li Y, Zhang X, et al. Orthogonal excitations of lanthanide nanoparticle up/down conversion emissions via switching NIR lights for in-vivo theranostics[J]. *Biomaterials*, 2022, 291: 121873.IF=15.304
8. Guan G, Zhang Q, Jiang Z, et al. Multifunctional silk fibroin methacryloyl microneedle for diabetic wound healing[J]. *Small*, 2022, 18(51): 2203064.IF=15.153
9. Yan Z, Wang D, Cai J, et al. High-specificity protection against radiation-induced bone loss by a pulsed electromagnetic field[J]. *Science Advances*, 2022, 8(34): eabq0222.IF=14.957
10. Xu G, Li C, Chi C, et al. A supramolecular photosensitizer derived from an Arene-Ru (II) complex self-assembly for NIR activated photodynamic and photothermal therapy[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 3064.IF=14.919