

Annexin V-PE/7-AAD 双染细胞凋亡检测试剂盒

Annexin V-PE/7-AAD Apoptosis Detection Kit

Cat number: KGA1104-10/KGA1104-20/KGA1104-50/ KGA1104-100

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

For Research Use Only

Version: K240824

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的内层，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 PE 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。

7-AAD（7-amino-actinomycin D）是一种核酸染料，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，结合细胞凋亡中 DNA 的有控降解，在合适波长激发光的激发下可发出明亮的红色荧光，通过 7-AAD 标记 DNA 的强弱，将细胞分为三群：7-AAD 强为死亡细胞，7-AAD 弱是凋亡细胞，7-AAD 阴性为正常活力细胞。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-PE 联合使用。

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	KGA1104-10	KGA1104-20	KGA1104-50	KGA1104-100	储存条件
	10 tests	20 tests	50 tests	100 tests	
Annexin V-PE	10 μ L	20 μ L	50 μ L	100 μ L	2-8°C，避光
7-AAD 染液	50 μ L	100 μ L	250 μ L	500 μ 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-PE，7-AAD 避光保存及使用。
3. 7-AAD 为潜在致癌物，操作时请采取防护措施，穿防护服、戴手套等。

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 1×10^5 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 $1-5 \times 10^5$ 个细胞；
3. 加入 500 μ L 的 Binding Buffer 轻轻吹匀成单细胞悬液；
4. 加入 1 μ L Annexin V-PE 和 5 μ L 7-AAD，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-PE (Ex=488 nm, Em=578 nm) 的橙红色荧光，通过 PE 通道 (FL2) 检测；7-AAD (Ex=546 nm, Em=647 nm)，建议使用 FL3 通道检测。
 - 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。

六、实验范例

1. 流式检测

使用 DDP (20 μ M) 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。

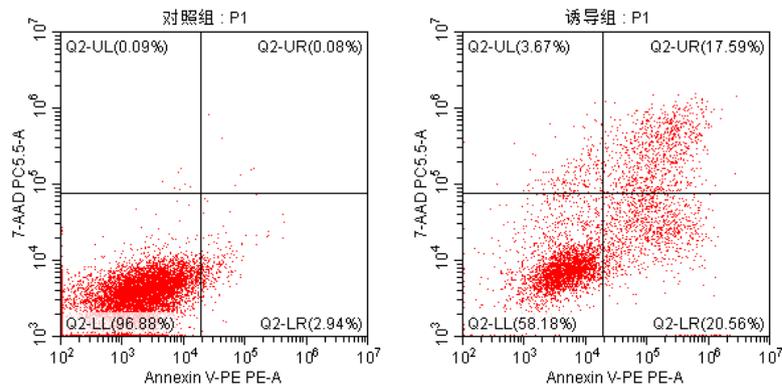


图 1. K562 细胞用本试剂盒染色后流式细胞仪检测细胞凋亡的效果图。K562 细胞未经处理或 DDP (20 μ M) 作用 48h 后, 用本试剂盒染色, 然后用流式细胞仪进行细胞的凋亡检测; (左) 未诱导凋亡的对照组; (右) DDP 诱导组。从图中可以看出, 与对照组相比, K562 细胞经过 DDP (20 μ M) 处理后, 其 Annexin V-PE 染色阳性/7-AAD 染色阴性的细胞 (早期凋亡细胞), 明显增加 (右下象限), Annexin V-PE 和 7-AAD 染色双阳性的细胞 (晚期细胞), 也有所增加 (右上象限)。

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 μ L (20 tests)
KGA1502-100	Annexin V-EGFP Reagent	100 μ L (20 tests)
KGA1503-20	Annexin V-PE Reagent	20 μ L (20 tests)
KGA1504-100	Annexin V-APC Reagent	100 μ 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. Micropeptide MIAC inhibits the tumor progression by interacting with AQP2 and inhibiting EREG/EGFR signaling in renal cell carcinoma, 10.1186/s12943-022-01654-1, Molecular Cancer, 2022-09-19, IF=41.444
2. Modularized supramolecular assemblies for hypoxia-activatable fluorescent visualization and image-guided theranostics, 10.7150/thno.95590, Theranostics, 2024-06-11, IF=12.4
3. Nanodrug modified with engineered cell membrane targets CDKs to activate aPD-L1 immunotherapy against liver metastasis of immune-desert colon cancer, 10.1016/j.jconrel.2024.03.052, JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, 2024-04-03, IF=10.8