

Annexin V-APC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

Annexin V-APC/PI Cell Apoptosis Detection Kit

Cat number: KGA1107-20/KGA1107-50/KGA1107-100

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 APC 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-APC 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	KGA1107-20	KGA1107-50	KGA1107-100	储存条件
	20 tests	50 tests	100 tests	
Annexin V-APC	100 μ L	250 μ L	500 μ L	2-8°C，避光
Propidium Iodide	100 μ L	250 μ L	500 μ L	2-8°C，避光
Binding Buffer	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-APC, 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 1×10^5 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 1-5×10⁵ 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-APC 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-APC（Ex=633 nm，Em=660 nm）的荧光通道（FL4）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. 根据样本数量，计算并配制染色工作液：在 1.5 mL EP 管中，加入 500 μL Binding Buffer、5 μL Annexin V-APC 和 5 μL Propidium Iodide，混匀（以 500 μL 为例）；
5. 将染色工作液加入孔板中（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。

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。

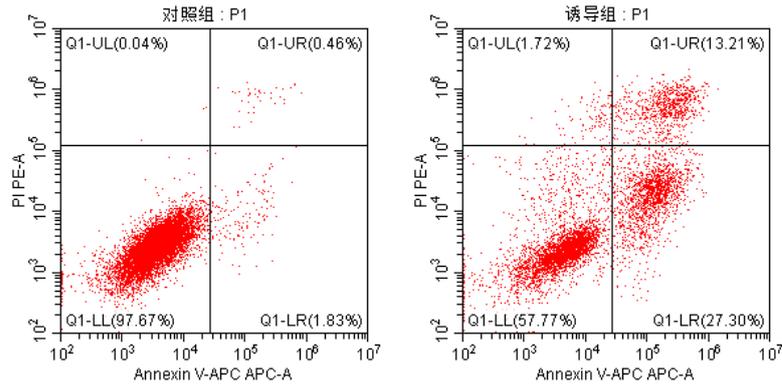


图 1. K562 细胞用本试剂盒染色后流式细胞仪检测细胞凋亡的效果图。K562 细胞未经处理或 DDP (20 μ M) 作用 48 h 后, 用本试剂盒染色, 然后用流式细胞仪进行细胞的凋亡检测; (左) 未诱导凋亡的对照组; (右) DDP 诱导组。从图中可以看出, 与对照组相比, K562 细胞经过 DDP (20 μ M) 处理后, 其 Annexin V-APC 染色阳性/PI 染色阴性的细胞 (早期凋亡细胞), 明显增加(右下象限), Annexin V-APC 和 PI 染色双阳性的细胞 (晚期细胞), 也有所增加(右上象限)。

2. 荧光显微镜检测

使用 DDP (10 μ 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。

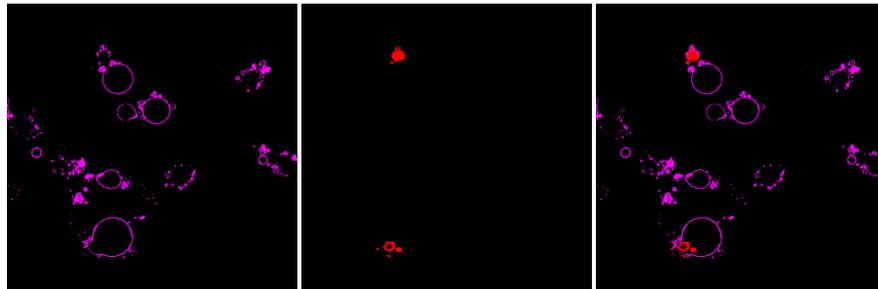


图 2. HepG2 细胞用本试剂盒染色后荧光显微镜检测细胞凋亡的效果图。HepG2 细胞经 DDP (10 μ M) 作用 48 h 后, 用本试剂盒染色, 然后用荧光显微镜检测; (左) 紫红色 APC 通道; (中) 红色 PI 通道; (右) 合并视野。图中紫色荧光为 Annexin V-APC 染色阳性细胞, 红色荧光为 PI 染色阳性细胞。仅被紫色荧光染色的为早期凋亡细胞, 被紫色和红色荧光双染的是晚期凋亡细胞。

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 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. circEXOC6B interacting with RRAGB, an mTORC1 activator, inhibits the progression of colorectal cancer by antagonizing the HIF1A-RRAGB-mTORC1 positive feedback loop, 10.1186/s12943-022-01600-1, Molecular Cancer, 2022-06-23, IF=41.444
2. A positive feedback loop between PFKP and c-Myc drives head and neck squamous cell carcinoma progression, 10.1186/s12943-024-02051-6, Molecular Cancer, 2024-07-09, IF=27.7
3. Remodeling Tumor-Associated Neutrophils to Enhance Dendritic Cell-Based HCC Neoantigen Nano-Vaccine Efficiency, 10.1002/advs.202105631, Advanced Science, 2022-02-10, IF=17.521
4. The proteasome component PSMD14 drives myelomagenesis through a histone deubiquitinase activity, 10.1016/j.molcel.2023.10.019, MOLECULAR CELL, 2023-11-06, IF=16
5. Hierarchically tumor-activated nanoCRISPR-Cas13a facilitates efficient microRNA disruption for multi-pathway-mediated tumor suppression, 10.7150/thno.81776, Theranostics, 2023-05-08, IF=12.4
6. M6A demethylase ALKBH5 regulates FOXO1 mRNA stability and chemoresistance in triple-negative breast cancer, 10.1016/j.redox.2023.102993, Redox Biology, 2023-12-12, IF=11.4
7. Nrf2 transcriptional upregulation of IDH2 to tune mitochondrial dynamics and rescue angiogenic function of diabetic EPCs, 10.1016/j.redox.2022.102449, Redox Biology, 2022-08-28, IF=10.787
8. A stepwise-responsive editor integrated with three copper ions for the treatment of oral squamous cell carcinoma, 10.1007/s12274-024-6438-3, Nano Research, 2024-01-25, IF=9.9
9. Preoperative neoadjuvant targeted therapy remodels intra-tumoral heterogeneity of clear-cell renal cell carcinoma and ferroptosis inhibition induces resistance progression, 10.1016/j.canlet.2024.216963, CANCER LETTERS, 2024-05-18, IF=9.7
10. UPF1 contributes to the maintenance of endometrial cancer stem cell phenotype by stabilizing LINC00963, 10.1038/s41419-022-04707-x, Cell Death & Disease, 2022-03-22, IF=9.685