



Annexin V-PE 细胞凋亡试剂盒说明书（简化版）

（G005-1）

一、检测原理

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 35-36KD 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，所以可以通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的细胞膜结合。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。

二、试剂组成

组份	G005-1-1 10T	G005-1-2 20T	G005-1-3 50T	储存条件
Annexin V-PE (μl)	10	20	50	4℃避光
Binding Buffer (ml)	5	10	25	4℃

三、自备仪器和试剂

流式细胞仪或荧光显微镜、低速离心机、微量移液器、1.5ml EP 管、载玻片、盖玻片（荧光显微镜用）、PBS、胰酶消化液（不含 EDTA）

四、操作步骤

- 1、悬浮细胞 2000 转/分钟离心 5 分钟收集；贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集。
- 2、用 PBS 洗涤细胞 2 次，每次 2000 转/分钟离心 5 分钟，收集 $1-5 \times 10^5$ 细胞。
- 3、加入 500 μl 的 Binding Buffer 悬浮细胞。
- 4、加入 1 μl 的 Annexin V-PE 混匀。
- 5、室温避光反应 5-15 分钟
- 6、1 小时内用荧光显微镜或者流式细胞仪检测。

A、荧光显微镜观察

- a、滴一滴上述染色后的细胞悬液在玻片上，盖上盖玻片；
- b、对于贴壁细胞，可以直接用盖玻片来培养细胞并诱导细胞凋亡；
 - ①、培养细胞于盖玻片上，用适当的凋亡诱导剂诱导细胞凋亡，并设定阴性对照；
 - ②、PBS 清洗细胞 2 次；
 - ③、在 500 μl 的 Binding Buffer 加 1 μl 的 Annexin V-PE 混匀；
 - ④、上述混合溶液滴加于盖玻片表面，使细胞表面均匀覆盖；
 - ⑤、室温避光反应 5 分钟。
 - ⑥、将盖玻片倒置于载玻片上，荧光显微镜下观察 Annexin V-PE 荧光信号呈橙红色。

B、流式细胞仪检测

- ①、激发波长 EX=488nm，发射波长 Em=578nm
- ②、建议使用 FL2 通道检测
- ③、荧光补偿调节：使用经凋亡又处理的正常细胞，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。