

Annexin V-Fluor488/PI Apoptosis Detection Kit

Annexin V-Fluor488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1884A	Annexin V-Fluor488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	20T
BL1884B	Annexin V-Fluor488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	50T
BL1884C	Annexin V-Fluor488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	100T

产品简介:

在磷脂酰丝氨酸 (PS) 是一种带负电荷的磷脂, 正常细胞中, 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 PS 由脂膜内侧翻向细胞膜外侧, 使 PS 暴露在细胞膜外表面。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, 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 被公认为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。

将 Annexin V 进行绿色荧光 Fluor 488 标记, 以标记了的 Annexin V 作为探针, 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, 它不能透过正常细胞或早期凋亡细胞的完整的细胞膜, 但对凋亡中晚期的细胞和坏死细胞, PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此采用 Annexin V 与 PI 双染的方法, 就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

产品组分:

产品编号	产品名称	BL1884A	BL1884B	BL1884C
1	Annexin V-Fluor 488	100 μ l	250 μ l	500 μ l
2	Propidium Iodide, PI	200 μ l	500 μ l	1000 μ l
3	Binding Buffer (4 $\times$)	4ml	10ml	20ml

使用方法:

1、细胞样品的准备

悬浮细胞:

- (1) 收集细胞至离心管中, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心去除上清。
- (2) 用 1ml 4℃预冷 PBS 轻轻重悬细胞并计数, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心吸除上清。
- (3) 再加入 1ml 4℃预冷的 PBS 重悬细胞, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心吸除上清

贴壁细胞:

(1) 吸出细胞培养液至离心管中, PBS 洗涤贴壁细胞一次, 加入适量不含 EDTA 的胰酶细胞消化液消化细胞。

(2) 室温孵育至轻轻吹打可以使贴壁细胞吹打下来时, 吸除胰酶细胞消化液。需避免胰酶的过度消化。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



(3) 加入步骤(1)中收集的细胞培养液, 稍混匀, 转移到离心管内, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心吸除上清。

注意: 加入步骤(1)中的细胞培养液一方面可以收集已经悬浮的发生凋亡或坏死的细胞, 另一方面细胞培养液中的血清可以有效抑制或中和残留的胰酶; 残留的胰酶会消化并降解后续加入的 Annexin V-Fluor 488 导致染色失败。

(4) 用 1ml 4℃预冷 PBS 轻轻重悬细胞并计数, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心吸除上清。

(5) 再加入 1ml 4℃预冷的 PBS 重悬细胞, 1000-2000rpm 离心 5min, 小心吸除上清

2、用去离子水按 1: 4 稀释 Binding Buffer (4ml Binding Buffer+12ml 去离子水);

3、用适当体积的结合缓冲液重新悬浮细胞, 调节其浓度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$;

4、取 100 μl 的细胞悬液于 5 ml 流式管中, 加入 5 μl Annexin V-Fluor 488, 轻轻混匀;

5、室温(20-25℃)避光孵育 10min;

6、上机前 5min 加入 10 μl 碘化丙啶溶液, 轻轻混匀;

7、上机前在反应管中补加 400 μl PBS 重悬细胞, 避光保存, 随即进行流式细胞仪 (FACS) 检测, Annexin V-Fluor 488 为绿色荧光, PI 为红色荧光。

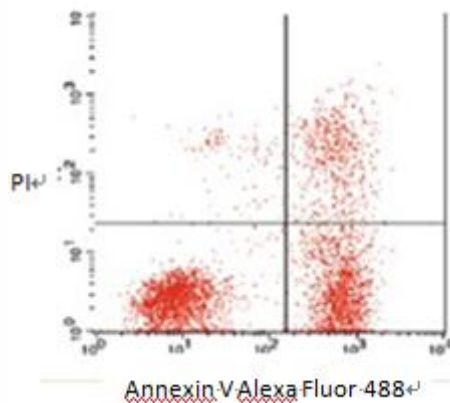


图 1. 流式细胞术检测早期凋亡细胞
右下象限为早期凋亡细胞, 右上象限为凋亡晚期细胞和坏死细胞。

注意事项:

1、微量试剂需离心数秒, 将试剂收集至管底后再开盖取用。

2、Propidium Iodide (PI) 有毒, 操作时要带手套, 使用时避免与皮肤, 眼睛和黏膜接触。

3、Annexin V-Fluor 488 中含有剧毒成分叠氮化钠 (NaN_3), 操作时要带手套, 使用时避免与皮肤, 眼睛和黏膜接触。

4、本试剂盒用于检测活细胞, 流式细胞仪检测时, 细胞数量不应低于 1×10^6 。

5、染色后宜尽快检测, 时间过长可能会导致凋亡或坏死细胞的数量增加。

6、Annexin V 检测凋亡细胞的方法适用于悬生长长的细胞, 如: 淋巴细胞等细胞的检测。对于贴壁生长的细胞, 由于在胰酶等消化处理过程中会造成细胞膜的损伤, 会造成较高的假阳性, 而用细胞刮刀会造成细胞粘连成团, 而影响检测, 可将胰酶消化后的细胞保存在含 2%BSA 的 PBS 中, 防止进一步的损伤。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





7、消化贴壁细胞残留的胰酶会消化并降解 Annexin V-Fluor 488，最终导致染色失败。

8、细胞固定后可能导致荧光的淬灭，请不要固定样品

9、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

10、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

4℃避光保存，一年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

电话：400-600-4213

邮箱：techserv@labgjc.com

