

Annexin V-Fluor647/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0195-20T	Annexin V-Fluor647/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	20T
NBS0195-50T	Annexin V-Fluor647/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	50T
NBS0195-100T	Annexin V-Fluor647/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒	100T

产品简介:

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 进行红色荧光 Fluor647 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。

保存条件:

4°C 避光保存, 1 年有效。

产品组成:

组分	名称	20T	50T	100T
NBS0195-A	Annexin V-Fluor647	100 μ l	250 μ l	500 μ l
NBS0195-B	Propidium Iodide, PI	200 μ l	500 μ l	1000 μ l
NBS0195-C	Binding Buffer(4 \times)	4ml	10ml	29ml

产品使用:

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°C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°C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。
- (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-Fluor647 导致染色失败。

- (4) 用 1ml 4°C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°C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 1×10^6 /ml;

4、取 100 μ l 的细胞悬液于 5ml 流式管中, 加入 5 μ l Annexin V-Fluor647, 轻轻混匀;

5、室温(20-25°C)避光孵育 10min;

6、上机前 5min 加入 10 μ l 碘化丙啶溶液, 轻轻混匀;

7、上机前在反应管中补加 400 μ l PBS 重悬细胞, 避光保存, 随即进行流式细胞仪 (FACS) 检测, Annexin V-Fluor647 和 PI 均为红色荧光。

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-Fluor647 中含有剧毒成分叠氮化钠 (NaN₃), 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浮生长的细胞，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。
7. 消化贴壁细胞残留的胰酶会消化并降解 Annexin V-Fluor647，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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关产品:

产品编号	产品名称	规格
<u>NBS0189-50T</u>	<u>细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒</u>	50T
<u>NBS0190-20T</u>	<u>一步法 TUNEL 细胞凋亡试剂盒 (AF 488, 绿色)</u>	20T
<u>NBS0191-20T</u>	<u>一步法 TUNEL 细胞凋亡试剂盒 (YF555, 橙红色)</u>	20T
<u>NBS0192-20T</u>	<u>一步法 TUNEL 细胞凋亡试剂盒 (AF594, 红色)</u>	20T
<u>NBS0193-20T</u>	<u>一步法 TUNEL 细胞凋亡试剂盒 (YF640, 远红)</u>	20T
<u>NBS0194-20T</u>	<u>Annexin V-Fluor488/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒</u>	20T
<u>NBS0195-20T</u>	<u>Annexin V-Fluor647/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒</u>	20T
<u>NBS0196-20T</u>	<u>Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒</u>	20T
<u>NBS0197-20T</u>	<u>Annexin V-APC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒</u>	20T
<u>NBS0198-50T</u>	<u>高效型 Fluor 488-Annexin V/RedNucleus II 细胞凋亡试剂盒 (AF, 绿色, 远红)</u>	50T
<u>NBS0199-50T</u>	<u>高效型 PE-Annexin V/RedNucleus II 细胞凋亡试剂盒 (橙红色, 远红)</u>	50T