

Annexin V-APC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

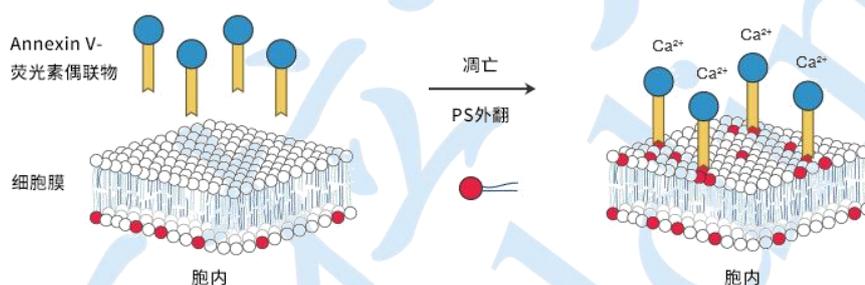
A1372287

储存温度 2-8℃避光储存，禁止冻存。

运输条件 冰袋运输，收到后请及时放到储存条件下储存。

产品介绍

膜联蛋白 (Annexins) 是一类钙离子依赖型磷脂结合蛋白，能特异性结合磷脂酰丝氨酸 (PS)。在正常生理状态下，PS 只分布在细胞膜脂质双层的内侧。细胞凋亡早期，PS 由脂膜内侧翻向外侧，在磷脂双分子层中的不对称分布丧失，从而使细胞成为被吞噬的目标。一旦 PS 暴露在膜的外表面，它便可在钙离子存在的情况下，被荧光标记的膜联蛋白 V (Annexin V) 检测到。



图一 Annexin V 检测原理

在凋亡早期，活性染料（如碘化丙啶 PI、7-AAD）不能通过细胞脂膜。这类细胞便只会被 Annexin V 染色，但不被活性染料染色，从而可区分出处于早期凋亡的细胞。然而，在凋亡晚期，细胞膜完整性丧失，使得 Annexin V 也能结合细胞内部的 PS。此时，活性染料可用于区分晚期凋亡和坏死细胞（Annexin V 阳性、活性染料阳性）与早期凋亡细胞（Annexin V 阳性、活性染料阴性）。

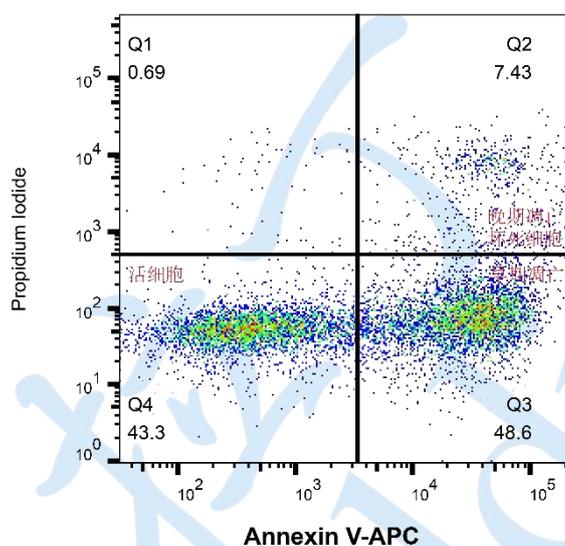
本试剂盒适用于通过流式细胞术对死亡细胞（如凋亡或坏死细胞）进行鉴定和计数。

产品组份

组份	20 Test	50 Test	100 Test	保存条件
10x Annexin V 结合缓冲液	5 mL	10 mL	20 mL	2-8℃
Annexin-APC	100 μL	250 μL	500 μL	2-8℃，避光
PI 染色液	100 μL	250 μL	500 μL	2-8℃，避光

使用方法

1. 使用前需将 10x 结合缓冲液用去离子水稀释至 1x(1mL 10x 缓冲液加 9mL 去离子水);
2. 预冷 PBS 清洗细胞两次后, 按照 $1.0-5.0 \times 10^5/\text{mL}$ 的密度用 1x Annexin V 结合缓冲液重悬;
3. 每 100 μL 细胞悬液中加入 5 μL Annexin V-APC 及 2 μL PI 染料;
4. 轻柔涡旋混匀细胞, 室温避光孵育 10 min;
5. 加入 100 μL 结合缓冲液, 1h 内完成上机分析。



图二 实验结果展示

注意事项

1. 使用时请避光以减缓荧光淬灭;
2. PI 染料具有具有剧毒性和致突变性, 操作时需谨慎;
3. 由于膜联蛋白 V (Annexin V) 与磷脂酰丝氨酸 (PS) 的结合具有钙依赖性, 因此在 Annexin V 实验中务必避免使用含 EDTA 或其他钙螯合剂的缓冲液。