

Annexin V-APC/DAPI 细胞凋亡检测试剂盒

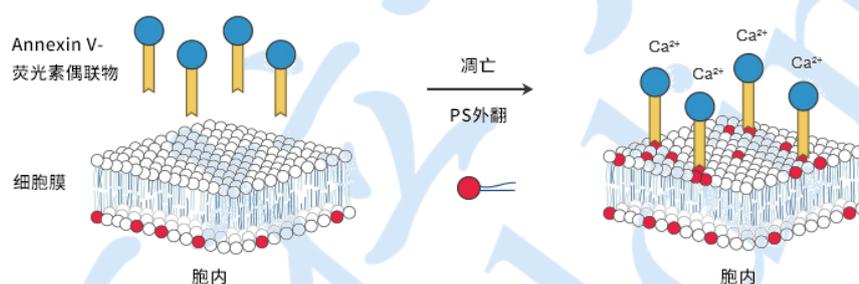
A1456534

储存温度 2-8°C 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条件下，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 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 DAPI、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。

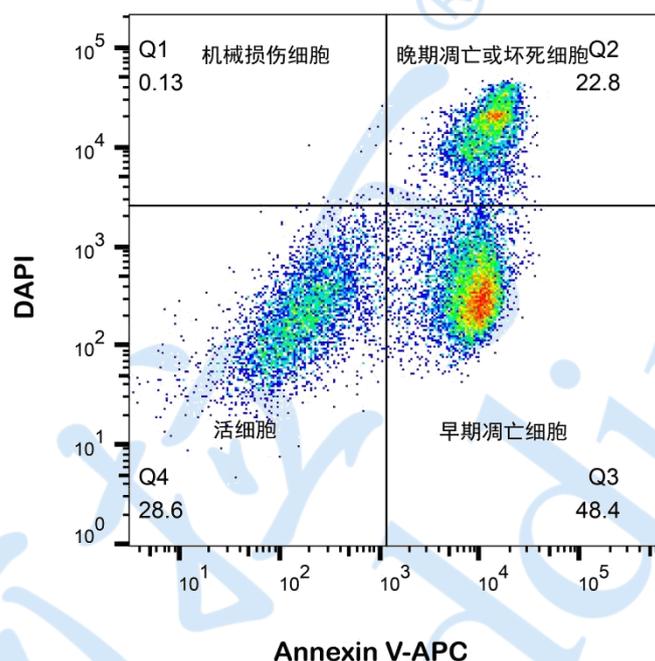
产品组份

A1456534	Components	20 T	50 T	100 T	Storage	Quantity Per Test
A1456534A	10× Annexin V Binding Buffer	5 mL	10 mL	20 mL	2-8°C	200 μL per 0.5-1.0x10 ⁵ cells
A1456534B	Annexin V -APC	100 μL	250 μL	500 μL	2-8°C. Store in the dark.	5 μL per 0.5-1.0x10 ⁵ cells
A1456534C	DAPI Staining Solution (25 μg/mL)	20 μL	50 μL	100 μL	2-8°C. Store in the dark.	1 μL per 0.5-1.0x10 ⁵ cells

注：每个 Test 推荐染色的细胞数量为 0.5-1.0x10⁵ cells.

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(1 mL 10x 缓冲液加 9 mL 去离子水);
2. 预冷 PBS 清洗细胞两次后, 按照 $0.5-1.0 \times 10^6$ cells /mL 的密度用 1x Annexin V 结合缓冲液重悬;
3. 每 100 μ L 细胞悬液中加入 5 μ L Annexin V-APC 及 1 μ L DAPI 染料;
4. 加入 100 μ L 结合缓冲液, 轻柔涡旋混匀细胞, 室温避光孵育 10 min;
5. 1 h 内完成上机分析。



图二 喜树碱处理 Jurkat 细胞, 用 Annexin V-APC/DAPI 细胞凋亡检测试剂盒 (A1456534)流式检测结果图。Q1:机械损伤细胞, 细胞膜完整性丧失(Annexin V-), DAPI 可进入细胞核结合 DNA (DAPI+); Q2: 晚期凋亡或坏死细胞, 细胞膜磷脂酰丝氨酸外露 (Annexin V+), 且膜完整性丧失(DAPI+); Q3: 活细胞, 细胞膜完整, 无磷脂酰丝氨酸外露(Annexin V-/DAPI-); Q4: 早期凋亡细胞, 细胞膜磷脂酰丝氨酸外露 (Annexin V+), 但细胞膜完整(DAPI-)。

注意事项

1. 使用时请避光以减缓荧光淬灭;
2. DAPI 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。