

M5 Hiper Annexin V-eGFP/PI

凋亡检测试剂盒说明书

| 产品名称 | 单位 | 货号 |
|--------------------------------|-----|----------|
| M5 Hiper Annexin V-eGFP/PI kit | 50T | MF127-01 |

【储存条件】

4°C 避光保存

【产品概述】

Annexin V-eGFP/PI流式检测试剂盒是一种采用Annexin V-eGFP与PI双染法进行细胞早期凋亡分析的检测试剂盒。

细胞凋亡早期改变发生在细胞膜表面，这些细胞膜表面的改变之一是磷脂酰丝氨酸(PS)从细胞膜内转移到细胞膜外，使PS 暴露在细胞膜外表面。PS 是一种带负电荷的磷脂，正常主要存在于细胞膜的内面，在细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性被破坏而使PS 暴露在细胞膜外。Annexin V 具有易于结合到磷脂类如PS 的特性，对PS 有高度的亲和性。因此，该蛋白可充当一敏感的探针检测暴露在细胞膜表面的PS。PS 转移到细胞膜外不是凋亡所独特的，也可发生在细胞坏死中。两种细胞死亡方式间的差别是在凋亡的初始阶段细胞膜是完好的，而细胞坏死在其早期阶段细胞膜的完整性就破坏了。因此，可以采用Annexin V 与PI 双染的方法，通过流式检测细胞早期凋亡。

【产品组分】

| | 50 T |
|-------------------------------------|--------|
| 4x Binding Buffer | 10 ml |
| Propidium Iodide, PI | 500 µl |
| Annexin V/eGFP, (rh Annexin V/eGFP) | 250 µl |

【注意事项】

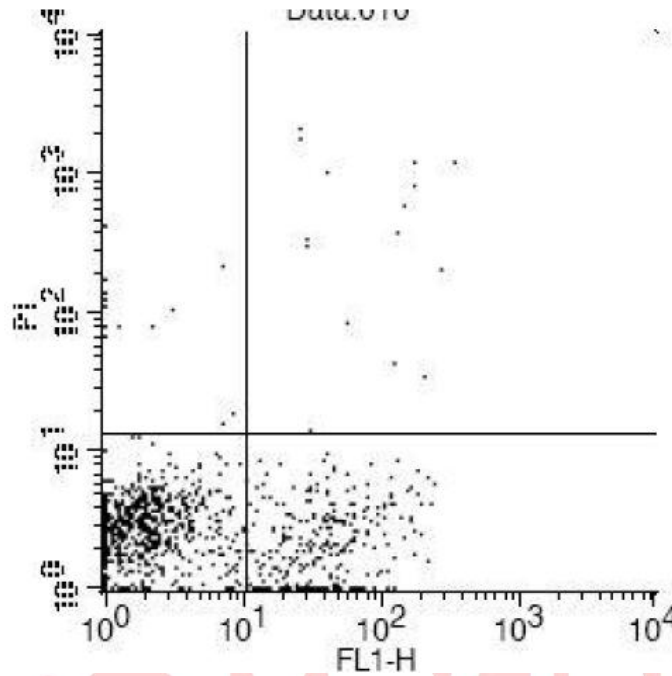
1. 消化细胞时不能用含EDTA的胰酶。
2. 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
3. 需自备PBS和去离子水。
4. 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
5. 请穿实验服并戴一次性手套操作。

【操作步骤】

1. 细胞样品的准备：
 - a) 对于贴壁细胞：小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用不含 EDTA 的胰酶消化细胞，至细胞可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时，加入前面收集的细胞培养液，吹打下所有的贴壁细胞，并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000rpm 左右离心 5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞无法完全离心至离心管底，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50µl 左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约 1ml 4°C 预冷的 PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清。
 - b) 对于悬浮细胞：1000rpm 左右离心 5min，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞无法完全离心至离心管底，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50µl 左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约 1ml 4°C 预冷的 PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清。
2. 用去离子水按 1:3 稀释结合缓冲液(4ml 4x 结合缓冲液+12ml 去离子水)；
3. 用 1x 结合缓冲液重新悬浮细胞，调节其浓度为 $1-5 \times 10^6/ml$ ；

- 4. 取 100 μ l 的细胞悬液于 5ml 流式管中，加入 5 μ l Annexin V/eGFP 混匀后于室温避光孵育 5 分钟；
- 5. 加入 10 μ l 20ug/ml 的碘化丙锭溶液(PI)，并加 400 μ l PBS，立刻进行流式检测。

【实验图例】



Jurkat 细胞用顺铂诱导凋亡后用 Annexin V-eGFP/PI 双染流式分析图谱

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。