

细胞凋亡检测试剂盒（Annexin V-Alexa Fluor 488/PI）

货号	规格
BDLS4001-20	20T
BDLS4001-50	50T
BDLS4001-100	100T

产品介绍

Annexin V-Alexa Fluor 488/PI 细胞凋亡检测试剂盒是用 Alexa Fluor 488 标记的 Annexin V（膜联蛋白 V）作为探针，来检测细胞早期凋亡的发生，可用流式细胞仪或其他荧光检测设备进行检测。

其检测原理为：在正常的活细胞中，磷脂酰丝氨酸（Phosphatidylserine, PS）位于细胞膜的内侧，但在早期凋亡的细胞中，PS 从细胞膜的内侧翻转到细胞膜的表面，暴露在细胞外环境中。Annexin-V 是一种分子量为 35-36KD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白，能与 PS 高亲和力结合。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。

另外，本试剂盒中还提供了碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）用来区分存活的早期细胞和坏死或晚期凋亡细胞。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，但可以透过凋亡晚期和坏死细胞的细胞膜而使细胞核染红。因此，将 Annexin V 与 PI 联合使用时，PI 则被排除在活细胞（Annexin V-/PI-）和早期凋亡细胞（Annexin V+/PI-）之外，而晚期凋亡细胞和坏死细胞同时被 Alexa Fluor488 和 PI 结合染色呈现双阳性（Annexin V+/PI+）。

储存条件：2-8℃避光保存（勿冰冻）

注意事项：此产品仅供研究，不用于临床诊断

试剂盒组份

1. 结合缓冲液 4×(Binding Buffer 4×)

体积：20 Tests: 4ml（4 倍浓缩液）

50 Tests: 10ml（4 倍浓缩液）

100 Tests: 20ml（4 倍浓缩液）

稀释后溶液中各组分浓度：10mM Hepes/NaOH, pH 7.4, 140mM NaCl, 2.5mM $CaCl_2$

2. 碘化丙啶溶液（Propidium Iodide, PI）

体积：20 Tests: 0.2ml

50 Tests: 0.5ml

100 Tests: 1.0ml

浓度: 20 μ g/ml

3. 重组人 Annexin V/Alexa Fluor 488 , (rh Annexin V/Alexa Fluor 488)

来源: 大肠杆菌 (E.coli)

分子量: 35.8 KDa

样品量: 20 Tests: 0.1ml, 可用于 20 次实验

50 Tests: 0.25ml, 可用于 50 次实验

100 Tests: 0.5ml, 可用于 100 次实验

保存方法: 于 50mM Tris, 100mM NaCl, 1%BSA, 0.02%NaN₃,pH7.4 溶液中保存

纯度: SDS-PAGE 及反相 HPLC 表明纯度大于 98%

生物活性: Annexin V 可结合于磷脂酰丝氨酸并表现出抗磷脂酶活性

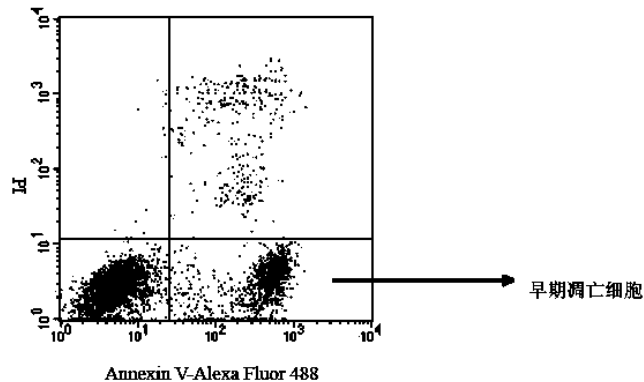
细胞凋亡流式检测应用

标记的 Annexin V 可结合流式细胞仪用于检测细胞外膜上的磷脂酰丝氨酸, 操作流程如下:

1. 用去离子水按 1:4 稀释结合缓冲液 (4ml 结合缓冲液+12ml 去离子水);
2. 用 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS 洗细胞两次, 用结合缓冲液重新悬浮细胞, 调节其浓度为 1×10^6 /ml;
3. 取 100 μ l 的细胞悬液于 5ml 流式管中, 加入 5 μ l Annexin V/Alexa Fluor 488 和 10 μ l 20ug/ml 的碘化丙锭溶液;
4. 混匀后于室温避光孵育 15 分钟;
5. 在反应管中加 400 μ l PBS, 流式细胞仪 (FACS) 分析。

(注: 消化细胞时不能用含 EDTA 的胰酶)

实验参考图片



Jurkat 细胞用顺铂诱导凋亡后用 Annexin V-Alexa Fluor 488/PI 双染流式分析图谱