



细胞凋亡检测试剂盒 (Annexin V-PE/7-AAD)

货号	规格
BDLS4004-20	20T
BDLS4004-50	50T
BDLS4004-100	100T

产品介绍

Annexin V-PE/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒是用荧光素 PE 标记的 Annexin 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 (膜联蛋白 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，本试剂盒中提供的 7-AAD 用来区分存活的早期细胞和坏死或晚期凋亡细胞。7-AAD 是一种核酸染料，同 PI 有着相似的荧光特性，但其发射光谱较 PI 窄，对其他检测通道的干扰更小，在多色荧光分析中是 PI 的最佳替代品，可与 Annexin V 联合使用。该染料不能透过正常细胞或早期凋亡细胞的完整的细胞膜，但可穿透晚期凋亡细胞或者坏死细胞并与其内的 DNA 结合。因此将 Annexin V-PE 与 7-AAD 联合使用时，7-AAD 则被排除在活细胞 (Annexin V-/7-AAD-) 和早期凋亡细胞 (Annexin V+/7-AAD-) 之外，而晚期凋亡细胞和坏死细胞同时被 Annexin V-PE 和 7-AAD 结合染色呈现双阳性 (Annexin V+/7-AAD+)。

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. 7-AAD Viability Staining Solution

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/PE, (rh Annexin V/PE)

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

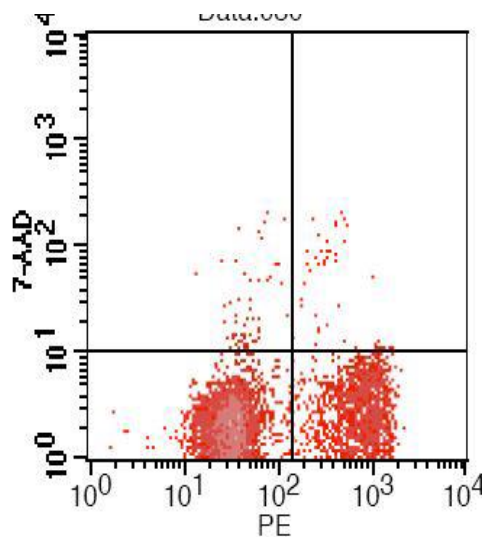
纯度: SDS-PAGE 及反相 HPLC 表明纯度大于 98%

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 250 μ l 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/PE, 室温避光孵育 5 分钟;
4. 加入 10 μ l 7-AAD 溶液;
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)

Jurkat 细胞用顺铂诱导凋亡后用
Annexin V-PE/7AAD 双染流式分析
图谱