

SUDGEN 产品说明书

Annexin V-EGFP 细胞凋亡检测试剂盒

订购请拨打 电话: 025-5864 1560

产 品	货号	规格
Annexin V-EGFP 细胞凋亡检测试剂盒	26005	50 次
Annexin V-EGFP 细胞凋亡检测试剂盒	26002	20 次
Annexin V-EGFP 细胞凋亡检测试剂盒	26001	10 次

储存: 4℃ 避光储存 1 年。

产品介绍: Annexin V 是一种检测细胞凋亡的试剂, 在正常细胞中, 磷脂酰丝氨酸 (PS) 只分布在细胞膜脂质双层的内侧, 细胞发生凋亡早期, PS 由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 作为一种磷脂结合蛋白, 与 PS 有高度亲和力, 它通过细胞外侧暴露的 PS 与凋亡早期的细胞膜结合。因此 Annexin V 是检测细胞早期凋亡的灵敏指标。本试剂盒用 EGFP 融合 Annexin V 蛋白, 即 Annexin V-EGFP, 使得标记的凋亡细胞带有 EGFP 绿色荧光。相对于 FITC, EGFP 更加稳定, 荧光更强而且不易淬灭。由于 EGFP 与 Annexin V 是融合蛋白, EGFP 与 PS 是等比例结合, 因此也可以进行凋亡的定量检测。

碘化丙啶 (PI) 是一种激发后发红光的核酸染料, 不能透过有完整细胞膜的正常细胞和早期凋亡细胞, 但能进入晚期凋亡细胞和坏死细胞。因此与 Annexin V-EGFP 结合使用可以区分细胞的不同凋亡时期, 可用于流式细胞仪或荧光显微镜检测。

试剂盒组分: Annexin V-EGFP;
Binding Buffer, 10 X stock;
Propidium Iodide (PI), 100 X stock.

使用方法:

一 流式细胞仪检测分析:

1. 药物处理诱导细胞凋亡后, 300g, 4℃ 离心 5 分钟, 收集 $2-5 \times 10^5$ 个细胞;
 - 悬浮细胞可直接离心收集;
 - 贴壁细胞可使用不含 EDTA 的胰酶进行消化处理, 消化结束后, 使用含血清的培养基终止反应, 离心收集细胞。细胞消化, 离心等过程要轻柔, 尽量避免人为损伤细胞, 引起假阳性。贴壁细胞诱导凋亡后, 如有漂浮细胞, 请一并离心收集, 以保证实验结果的可靠性。
2. 用预冷的 PBS 洗涤细胞一次, 300g, 4℃ 离心 5 分钟;
3. 用预冷的 1 X Binding buffer 洗涤细胞一次, 300g, 4℃ 离心 5 分钟;
4. 加入 490 μ l 1 X Binding Buffer 重悬细胞;
5. 加入 5 μ l Annexin V-EGFP 和 5 μ l PI 到上述细胞悬液中, 轻轻混匀, 室温避光反应 10-15 分钟;
6. 样品于冰上避光放置, 1 小时内检测;

二 荧光显微镜检测分析:

- 悬浮细胞或消化下来的贴壁细胞, 染色处理步骤同上。取 10 μ l Annexin V-EGFP/PI 双染的细胞悬液滴于玻璃载玻片上, 轻轻盖上盖玻片, 在荧光显微镜下观察拍照。

- 未经消化的贴壁细胞可以直接染色。用 PBS 和 1 X Binding buffer 分别洗涤细胞一次，在适量的 1 X Binding buffer 中加入 5 μ l Annexin V-EGFP 和 5 μ l PI, 避光反应 10-15 分钟, 可直接荧光显微镜下观察。如需 Confocal 拍照, 细胞需预先接种在玻璃载玻片上或适用于 Confocal 的培养皿中。