

Annexin V-EGFP/PI Apoptosis Detection Kit

Annexin V-EGFP/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------|-------------------------------|------|
| BL1931A | Annexin V-EGFP/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 | 20T |
| BL1931B | Annexin V-EGFP/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 | 50T |
| BL1931C | Annexin V-EGFP/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 | 100T |

产品简介:

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，而在细胞凋亡早期，细胞膜中的磷脂酰丝氨酸（PS）由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 是一种分子量为 35~36kD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白，与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力，故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。因此 Annexin V 被作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。将 Annexin V 进行荧光素（EGFP、FITC）标记，以标记了的 Annexin V 作为荧光探针，利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。与 FITC 的绿色荧光信号相比，EGFP 的绿色荧光信号具有信号强，不易淬灭，稳定性高等优点，故本试剂盒采用 EGFP 作为荧光标记探针。

碘化丙啶（Propidium Iodide, PI）是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但对凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI 能够透过细胞膜而使细胞核染红。因此将 Annexin V 与 PI 匹配使用，就可以将处于不同凋亡时期的细胞区分开来。

本试剂盒可应用于培养细胞凋亡检测，不推荐用于检测组织样本。

产品组分:

| 产品编号 | 产品名称 | BL1931A | BL1931B | BL1931C |
|------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | AnnexinV-EGFP | 100 μ l | 250 μ l | 500 μ l |
| 2 | Propidium Iodide, PI | 100 μ l | 250 μ l | 500 μ l |
| 3 | Binding Buffer | 10ml | 25ml | 50ml |

使用方法:

1、细胞收集

- (1) 悬浮细胞：800g 离心力，离心 5min 收集。
- (2) 贴壁细胞：贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集。

注意：胰酶消化时间不易过长，否则容易引起假阳性。

- 2、用 PBS 洗涤细胞两次（800g 离心力，离心 5min）收集 $1\sim 5\times 10^5$ 细胞；
- 3、加入 500 μ l 的 Binding Buffer 轻轻吹匀成单细胞悬液；
- 4、加入 5 μ l Annexin V-EGFP 混匀后，加入 5 μ l Propidium Iodide，混匀；
- 5、室温避光反应 10~20min；
- 6、请在 1h 内，进行流式细胞仪的观察和检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



7、流式细胞仪分析

(1) 用流式细胞仪检测，Annexin V-EGFP (Ex=488nm, Em=530nm) 的绿色荧光通过 FITC 通道 (FL1) 检测；PI 红色荧光 (Ex=488nm, Em≥630nm) 通过 PI 通道 (FL2 或 FL3) 检测，建议使用 FL3。

(2) 荧光补偿调节：使用经凋亡诱导处理的正常细胞，作为对照进行荧光补偿调节去除光谱重叠和设定十字门的位置。

注意事项：

- 1、微量试剂需离心数秒，将试剂收集至管底后再开盖取用。
- 2、Propidium Iodide (PI) 有毒，操作时要带手套，使用时避免与皮肤，眼睛和黏膜接触。
- 3、Annexin V-EGFP, Propidium Iodide (PI) 避光保存及使用。
- 4、本试剂盒适用于检测活细胞，流式细胞仪检测时，细胞数量不应低于 1×10^5 ，不推荐用于检测组织样本。
- 5、推荐使用悬浮培养细胞。如果是贴壁细胞，需用不含 EDTA 的胰酶消化，如消化不当，可能引起假阳性，而用细胞刮刀会造成细胞粘连成团，而影响检测。可将胰酶消化后的细胞保存在含 2%BSA 的 PBS 中，防止进一步的损伤。
- 6、细胞固定后可能导致荧光的淬灭，请不要固定样品。
- 7、因检测细胞的类型、凋亡诱导剂种类、使用的检测仪器不同，因而流式检测的荧光补偿也不同，因此建议每次检测均需使用经凋亡诱导处理的细胞作为对照，进行荧光补偿的调节。
- 8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

4℃ 避光保存，一年有效。

