

Annexin V-EGFP/PI 凋亡细胞检测试剂盒

Cat NO: IMP-CK002

产品描述

细胞凋亡生物体内的一种基本的生物学现象，在机体去除不需要的或异常的细胞中起着必要的作用，在细胞培养过程中，由于培养条件、操作方式的不合适以及人为诱导等原因会引起细胞发生凋亡；Annexin V 是一种 35 - 36 kDa 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白，与分布在细胞膜脂质双层的内侧磷脂酰丝氨酸具有高度亲和力，在细胞发生凋亡时，细胞膜外翻，磷脂酰丝氨酸得以与 Annexin V 结合，因此 Annexin V 可作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一，碘化丙啶（PI）是一种无法穿过细胞膜的有机物，在细胞膜受损时，可进入受损的细胞与细胞内的 DNA 结合并释放红色荧光，本试剂盒通过利用荧光的 Annexin V 和 PI 染料可有效的检测出凋亡的细胞。

适用范围

本试剂盒适用于检测人、鼠等生物凋亡的细胞。

运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表，所有组分开封后，有效期为 6 个月。

试剂盒组成信息

表 1. 试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-CK002SA	Anenxin V-EGFP	100 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002MA		250 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002LA		500 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002SB	PI 染色液	100 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002MB		250 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002LB		500 μL	2-8°C 6 个月
IMP-CK002SC	1 $\times$ Binding Buffer	10 ml	2-8°C 6 个月
IMP-CK002MC		25 ml	2-8°C 6 个月
IMP-CK002LC		50 ml	2-8°C 6 个月

染色步骤

1.取培养过程中或人为诱导的发生了凋亡的细胞一株，计数，取 $2-5 \times 10^5$ 个细胞，将细胞悬液在离心机中以 300 g，离心 5 min，去除上清（贴壁细胞可通过吹打或使用不含 EDTA 的胰酶消化的方式使细胞脱落，将细胞悬液在离心机中以 300g，离心 5 min，去除上清），加入 200 μ l 的 1×Binding Buffer 重悬细胞。

2.在离心机中以 300 g，离心 5 min，去除上清。

3.将细胞以 90 μ l 的 1×Binding Buffer 重悬，加入 5 μ l Annexin V-EGFP 和 5 μ l PI 染色液，轻轻吹匀；避光、室温(20~25°C)孵育 15 min。

4.在离心机中以 300 g，离心 5 min，去除上清。

5.加入 100 μ l 1 × Binding Buffer，轻轻混匀，染色后样品可在 1 h 内用流式细胞仪或荧光显微镜下检测。

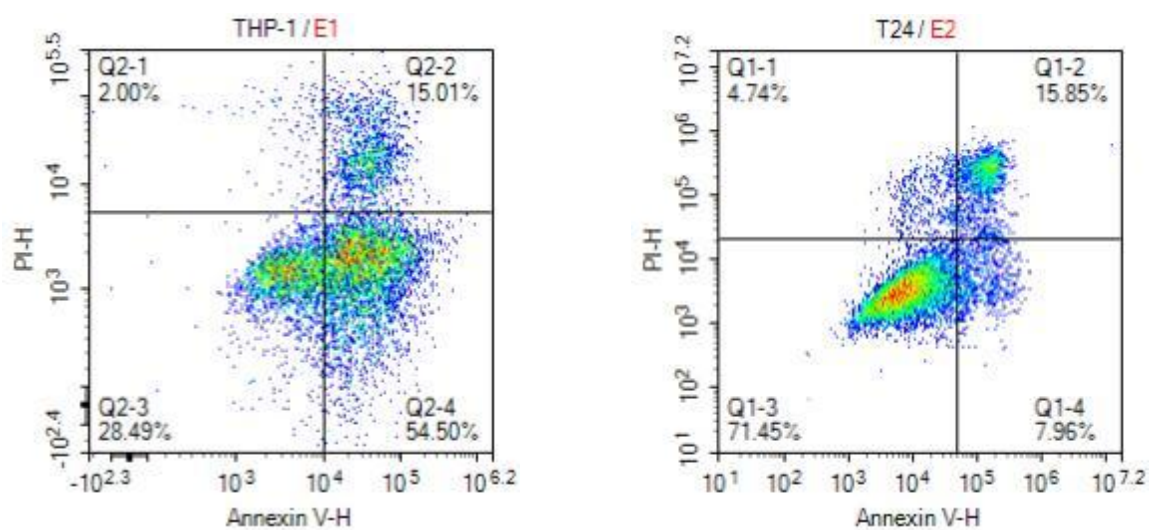
样品分析

1.流式分析：Annexin V EGFP 可在 FL1 通道检测；PI 的红色荧光可在 FL2 或 FL3 通道检测，用 FlowJo 等软件进行数据分析，FL1 为横坐标，FL2 或 FL3 为纵坐标，根据 Annexin V 和 PI 荧光值确定两荧光参数阴阳界限，划定十字门。典型的实验中细胞可分为三个亚群：活细胞为双阴性(Annexin V EGFP⁻/PI⁻)；早期凋亡细胞为 Annexin V-EGFP 单阳性(Annexin VEGFP⁺/PI⁻)；晚期凋亡细胞为 Annexin V-EGFP 和 PI 双阳性(Annexin V EGFP⁺/PI⁺)。

2.荧光显微镜分析：滴一滴染色后的细胞悬液于载玻片上，并用盖玻片或细胞爬片盖上细胞，荧光显微镜下察。在荧光显微镜下 Annexin-EGFP 呈绿色荧光，PI 呈红色荧光（对于贴壁细胞，也可使用细胞爬片培养细胞并诱导细胞凋亡并使用本试剂盒染色）。

检测效果

使用 10 μ M 的药物 Brotezomib 诱导悬浮细胞 THP-1细胞 5 h 和贴壁细胞 T24 细胞 24h 后使用本试剂盒的检测效果：



注意事项

1. Annexin VEGFP 和 PI 荧光染料都存在淬灭的问题，染色后应尽快检测荧光强度，且整个实验过程尽量避光下进行。
2. 若使用胰酶处理贴壁细胞，应尽可能地去掉胰酶，防止 Annexin V-EGFP 降解从而导致染色失败。
3. Annexin V EGFP 与细胞的结合需要在含有 Ca^{2+} 的 Binding Buffer 中。
4. Annexin V-EGFP 和碘化丙啶 (PI) 均具有一定毒性，操作时务必小心。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。