

Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒

Annexin V-PE Apoptosis Detection Kit

说明书修订日期: 2019.11.27

Cat number: KGA1011-KGA1014

Store at 2-8°C for 12 months, protected from light

For Research Use Only (科研专用)

一、试剂盒说明

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 PE 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。

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)。

二、试剂盒组份

组份	Cat: KGA1011 10 assays	Cat: KGA1012 20 assays	Cat: KGA1013 50 assays	Cat: KGA1014 100 assays	储存条件
AnnexinV-PE	10 μ L	20 μ L	50 μ L	100 μ L	2-8°C 避光
Binding Buffer	5 mL	10.0 mL	25 mL	50 mL	2-8°C

注: 1、Annexin V-PE 组份建议按需分装小份冻存于-20°C, 避免反复冻融;

2、Binding Buffer 组份不用时可放置于 4°C 保存, 需要避光。

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

流式细胞仪或荧光显微镜、低速离心机、微量移液器

1.5m L Microtube、载玻片、盖玻片 (荧光显微镜观察需用)、PBS、不含 EDTA 的胰酶消化液

四、使用注意事项

1. 微量试剂取用前请离心集液。
2. Annexin V-PE 避光保存及使用。
3. 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。
4. 推荐使用悬浮培养细胞。如果是贴壁细胞, 建议适用不含 EDTA 的胰酶消化, 如消化不当, 可能引起假阳性, 而用细胞刮子会造成细胞粘连成团, 而影响检测。可将胰酶消化后细胞的保存在含 2%BSA 的 PBS 中, 防止进一步的损伤。
5. 细胞固定后可能导致荧光的淬灭, 请不要固定样品。
6. 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未经凋亡诱导处理的细胞作为对照, 进行荧光补偿的调节。

五、操作方法

1. 悬浮细胞离心（2000rpm 离心 5min）收集；贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化收集（注：胰酶消化时间不易过长，否则容易引起假阳性）；
2. 用 PBS 洗涤细胞二次（2000rpm 离心 5min）收集 $1\sim 5\times 10^5$ 细胞；
3. 加入 500 μ L 的 Binding Buffer 悬浮细胞；
4. 加入 1 μ L Annexin V-PE 混匀；
5. 室温、避光、反应 5~15min；
6. 请在 1 hour 内，进行流式细胞仪的观察和检测。

流式细胞仪分析

- 1) 用流式细胞仪检测，激发波长 Ex=488 nm；发射波长 Em=578 nm。
- 2) Annexin V-PE 的橙红色荧光建议使用 FL2 通道检测。
- 3) 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。

凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

- 人类肿瘤细胞株 鼠肿瘤细胞株 正常细胞株 肿瘤耐药细胞株
- 细胞提取物（RNA/DNA/蛋白）
- 细胞培养相关产品

细胞凋亡

一、细胞凋亡研究试剂盒

- Annexin V-FITC/ EGFP/PE 细胞凋亡检测试剂盒
- TUNEL 凋亡原位检测系列试剂盒
- Caspase(2、3、6、8、9)系列细胞凋亡检测试剂盒

二、细胞凋亡相关抗体

三、凋亡诱导剂、抑制剂

四、氧化应激损伤检测试剂盒

五、细胞凋亡研究辅助试剂

细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

- 凯基细胞周期检测试剂盒
- MTT、XTT、WST-1、CCK-8 等系列细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

细胞染色产品

亚细胞组分制备