

Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒

Annexin V-PE Apoptosis Detection Kit



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
SA01088	Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒	4℃/-20℃	半年/1 年

产品参数:

1. Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒 (Annexin V-PE Apoptosis Detection Kit) 是用藻红蛋白 (Phycoerythrin, 简称 PE) 标记的重组人 Annexin V 来检测细胞凋亡时出现在细胞膜表面的磷脂酰丝氨酸的一种细胞凋亡检测试剂盒。可以使用流式细胞仪、荧光显微镜或其它荧光检测设备进行检测。

2. 本试剂盒检测的是红色荧光, 因此在待检测的细胞已经表达 GFP 等绿色荧光蛋白的情况下, 特别适合使用本试剂盒检测细胞凋亡。PE 可以被 495nm、545 或 564nm 的激发光所激发, 发出峰值为 575nm 的荧光 (参考图 1)

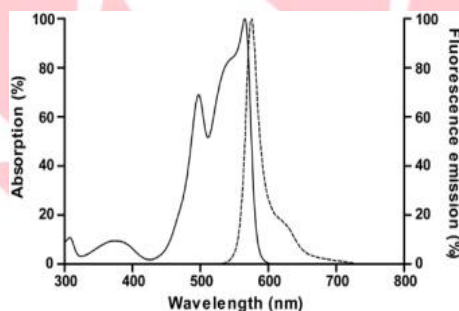


图 1. Phycoerythrin 的荧光光谱。

3. Annexin 是一类广泛分布于真核细胞细胞浆内钙离子依赖的磷脂结合蛋白, 参与细胞内的信号转导。但仅 Annexin V 被报道可以调控一些 PKC 的活性。

4. Annexin V 选择性结合磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, 简称 PS)。磷脂酰丝氨酸主要分布在细胞膜内侧, 即与细胞浆相邻的一侧。在细胞发生凋亡的早期, 不同类型的细胞都会把磷脂酰丝氨酸外翻到细胞表面, 即细胞膜外侧。磷脂酰丝氨酸暴露到细胞表面后会促进凝血和炎症反应。而 Annexin V 和外翻到细胞表面的磷脂酰丝氨酸结合后可以阻断磷脂酰丝氨酸的促凝血和促炎症反应活性。对于坏死细胞, 由于细胞膜的完整性已经丧失, Annexin V-PE 可以进入到细胞浆内, 与位于细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸结合, 从而使坏死细胞呈现红色荧光。

5. 用带有红色荧光的荧光探针 PE 标记的 Annexin V, 即 Annexin V-PE, 就可以用流式细胞仪或荧光显微镜非常简单而直接地检测到磷脂酰丝氨酸的外翻这一细胞凋亡的重要特征。

6. 正常细胞不会被 Annexin V-PE 所染色, 凋亡细胞和坏死细胞都会被 Annexin V-PE 所染色。如果希望进一步区分凋亡和坏死细胞, 可以使用其它细胞凋亡检测试剂盒进行检测。使用本试剂盒检测细胞凋亡的效果参考图 2。

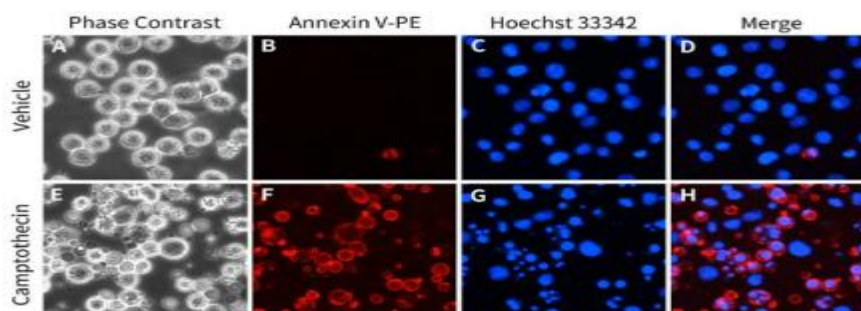


图 2. Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒的检测效果图。Jurkat 细胞(人 T 淋巴细胞瘤细胞)不处理或用 50 μ M Camptothecin 处理 3 小时后,使用本产品 and Hoechst33342 进行染色。正常情况下几乎所有 Jurkat 细胞呈 Annexin V-PE 阴性,只有极少数的凋亡或坏死细胞呈现红色荧光(图 B,D);使用 50 μ M Camptothecin 处理 Jurkat 细胞 3 小时,大多数细胞呈 Annexin V-PE 阳性,凋亡细胞的细胞膜被染成明亮的红色荧光(图 F,H)。蓝色荧光为 Hoechst33342 标记的所有细胞的细胞核(图 C,G)。本试剂盒中不提供 Hoechst33342,如有需要,可向萨默斯订购 Hoechst33342 活细胞染色液(100X)等。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异,图中数据仅供参考。

8. 本试剂盒小包装可以检测 20 个样品,中包装可以检测 50 个样品,大包装可以检测 100 个样品。

使用说明(仅供参考):

1. 对于悬浮细胞:

- 在进行完细胞凋亡刺激后,1000g(约 1000-2000rpm)离心 5 分钟,弃上清,收集细胞,用 PBS 轻轻重悬细胞并计数。注意:PBS 重悬不能省略,PBS 重悬的过程同时也起到了洗涤细胞的作用,可以保证后续 Annexin V-PE 的结合。
- 取 5-10 万重悬的细胞,1000g 离心 5 分钟,弃上清,加入 195 μ l Annexin V-PE 结合液轻轻重悬细胞。
- 加入 5 μ l Annexin V-PE,轻轻混匀。注:由于细胞样品的差异、凋亡和坏死程度的差异,可根据预实验结果优化 Annexin V-PE 的使用量。
- 室温(20-25 $^{\circ}$ C)避光孵育 10-20 分钟,随后置于冰浴中。可以使用铝箔进行避光。孵育过程中可以重悬细胞 2-3 次以改善标记效果。
- 随即进行流式细胞仪检测,Annexin V-PE 为红色荧光。如果用于荧光显微镜下检测,1000 $\times$ g 离心 5 分钟,收集细胞,用 50-100 μ l Annexin V-PE 结合液轻轻重悬细胞,涂片后,荧光显微镜下观察。

2. 对于贴壁细胞:

- 把细胞培养液吸出至一合适离心管内,PBS 洗涤贴壁细胞一次,加入适量胰酶细胞消化液(可含有 EDTA)消化细胞。室温孵育至轻轻吹打可以使贴壁细胞吹打下来时,吸除胰酶细胞消化液。需避免胰酶的过度消化。
- 加入步骤 2a 中收集的细胞培养液,稍混匀,转移到离心管内,1000g 离心 5 分钟,弃上清,收集细胞,用 PBS 轻轻重悬细胞并计数。注意:加入步骤 2a 中的细胞培养液一方面可以收集已经悬浮的发生凋亡或坏死的细胞,另一方面细胞培养液中的血清可以有效抑制或中和残留的胰酶;残留的胰酶会消化并降解后续加入的 Annexin V-PE 导致染色失败。
- 取 5-10 万重悬的细胞,1000g 离心 5 分钟,弃上清,加入 195 μ l Annexin V-PE 结合液轻轻重悬细胞。
- 加入 5 μ l Annexin V-PE,轻轻混匀。注:由于细胞样品的差异、凋亡和坏死程度的差异,可根据预实验结果优化 Annexin V-PE 的使用量。
- 室温(20-25 $^{\circ}$ C)避光孵育 10-20 分钟,随后置于冰浴中。可以使用铝箔进行避光。孵育过程中可以重悬细胞 2-3 次以改善标记效果。
- 随即进行流式细胞仪检测,Annexin V-PE 为红色荧光。如果用于荧光显微镜下检测,1000g 离心 5 分钟,收集细胞,用 50-100 μ l Annexin V-PE 结合液轻轻重悬细胞,涂片后,荧光显微镜下观察。L-929 细胞使用本产品的效果参考图 2。

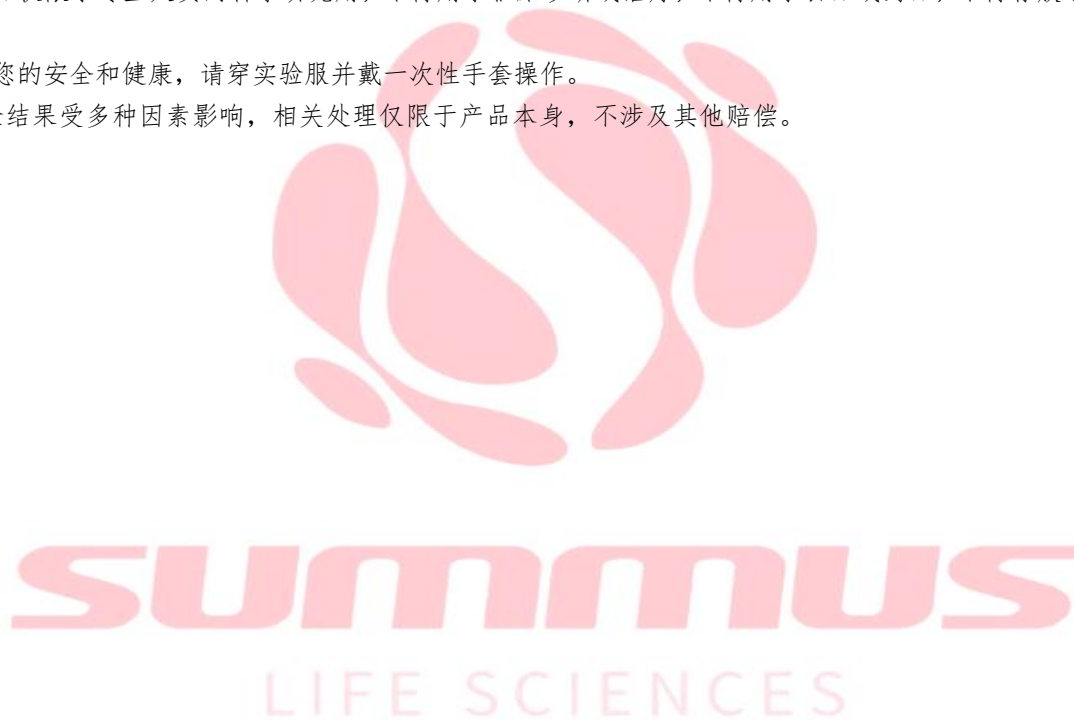
3. 对于贴壁细胞的原位荧光显微镜检测:

注:本方法的优点是可以原位观察细胞凋亡,缺点是部分凋亡由于不贴壁而检测不到。

- (选做)如果条件许可,把细胞培养于 24 孔板、48 孔板或 96 孔板内。在凋亡诱导结束后,用可以对多孔板进行离心的离心机 1000g 离心 5 分钟。
- 吸除细胞培养液,加入 PBS 洗涤一次(如果条件许可,在吸除 PBS 前 1000 $\times$ g 离心 5 分钟)。
- 加入 195 μ l Annexin V-PE 结合液。
- 加入 5 μ l Annexin V-PE,轻轻混匀。注:由于细胞样品的差异、凋亡和坏死程度的差异,可根据预实验结果优化 Annexin V-PE 的使用量。
- 室温(20-25 $^{\circ}$ C)避光孵育 10-20 分钟。可以使用铝箔进行避光。
- 随即在荧光显微镜下观察,Annexin V-PE 为红色荧光。

注意事项:

1. 尽管经测试 Annexin V-PE 反复冻融 5 次对于其检测效果无显著影响, 但为取得良好的使用效果, 3-6 个月内推荐 4℃ 保存, 并适当注意避免反复冻融。
2. 如果有细菌或真菌污染, 会严重影响检测效果。
3. 染色后宜尽快检测, 时间过长可能会导致凋亡或坏死细胞的数量增加。
4. 如果细胞收集过程中使用了胰酶, 需注意设法去除残留的胰酶。残留的胰酶会消化并降解 Annexin V-PE, 最终导致染色失败。
5. 由于细胞样品的差异、凋亡和坏死程度的差异, 可根据预实验结果优化 Annexin V-PE 的使用量, 进行适当增加或减少。
6. 荧光物质均易发生淬灭, 在进行荧光观察时, 尽量缩短观察时间, 同时在操作和存放过程中也尽量注意避光保存。
7. 需自备 PBS。
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。
10. 实验结果受多种因素影响, 相关处理仅限于产品本身, 不涉及其他赔偿。



免责声明: 本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路 58 号尚科办公社区 C 区一楼



公众号

客服