



### Annexin V-eGFP/PI Kit / 凋亡检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
DW0085	Annexin V-eGFP/PI Kit / 凋亡检测试剂盒	50T

#### 产品简介:

细胞凋亡早期改变发生在细胞膜表面, 这些细胞膜表面的改变之一是磷脂酰丝氨酸(PS)从细胞膜内转移到细胞膜外, 使 PS 暴露在细胞膜外表面。PS 是一种带负电荷的磷脂, 正常主要存在于细胞膜的内面, 在细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性被破坏而使 PS 暴露在细胞膜外。Annexin V 具有易于结合到磷脂类如 PS 的特性, 对 PS 有高度的亲和性。因此, 该蛋白可充当一敏感的探针检测暴露在细胞膜表面的 PS。PS 转移到细胞膜外不是凋亡所独特的, 也可发生在细胞坏死中。两种细胞死亡方式间的差别是在凋亡的初始阶段细胞膜是完好的, 而细胞坏死在其早期阶段细胞膜的完整性就破坏了。因此, 可以采用 Annexin V 与 PI 双染的方法, 通过流式检测细胞早期凋亡。

#### 操作步骤:

##### 1. 细胞样品的准备:

a)对于贴壁细胞: 小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用不含 EDTA 的胰酶消化细胞, 至细胞可以被轻轻用移液管 或枪头吹打下来时, 加入前面收集的细胞培养液, 吹打下所有的贴壁细胞, 并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000rpm 左右离心 5min, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞无法完全离心至离心管底, 可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约 50 $\mu$ l 左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约 1ml 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS, 重悬 细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。

b)对于悬浮细胞: 1000rpm 左右离心 5min, 沉淀细胞。对于特定的细胞, 如果细胞无法完全离心至离心管底, 可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清, 可以残留约 50 $\mu$ l 左右的培养液, 以避免吸走细胞。加入约 1ml 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS, 重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。

2. 用去离子水按 1:3 稀释结合缓冲液(4ml 4x 结合缓冲液+12ml 去离子水);

3. 用 1x 结合缓冲液重新悬浮细胞, 调节其浓度为  $1-5 \times 10^6$  /ml;

4. 取 100 $\mu$ l 的细胞悬液于 5ml 流式管中, 加入 5 $\mu$ l Annexin V/eGFP 混匀后于室温避光孵育 5 分钟;

5. 加入 10 $\mu$ l 20ug/ml 的碘化丙锭溶液(PI), 并加 400 $\mu$ l PBS, 立刻进行流式检测。

#### 实验设计:

空白管: 阴性对照组细胞, 不加 Annexin V/eGFP, 碘化丙锭溶液(PI), 用于调节电压。

单染管 1: 阳性对照组细胞, 只加 Annexin V/eGFP, 用于调节补偿。

单染管 2: 阳性对照组细胞, 只加碘化丙锭溶液(PI), 用于调节补偿。

检测管: 处理的细胞, 加 Annexin V/eGFP, 碘化丙锭溶液(PI)。用空白管和单染管调节好电压补偿后, 获得所需要的流式数据。

#### 检测波长:

GFP 激发波长是 488nm, 发射波长是 507nm, PI 激发波长是 488nm 发射光波波长大于 630nm。

#### 注意事项:

1. 不能用含有 EDTA 的胰酶消化
2. 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
3. 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。



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**本产品**在文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海

上海多沃生物