

Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-----------------------|------|
| C1065S | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 20次 |
| C1065M | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 50次 |
| C1065L | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 100次 |

产品简介:

- 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。
- 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)。

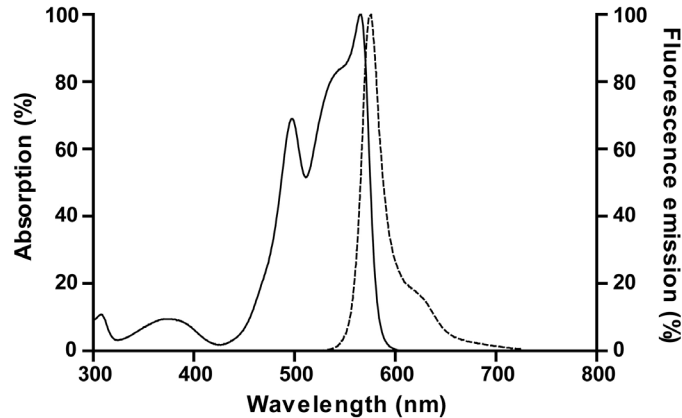


图1. Phycoerythrin的荧光光谱。

- 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。
- 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,从而也使坏死细胞呈现红色荧光。
- 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。
- 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(如C1062 Annexin V-FITC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。

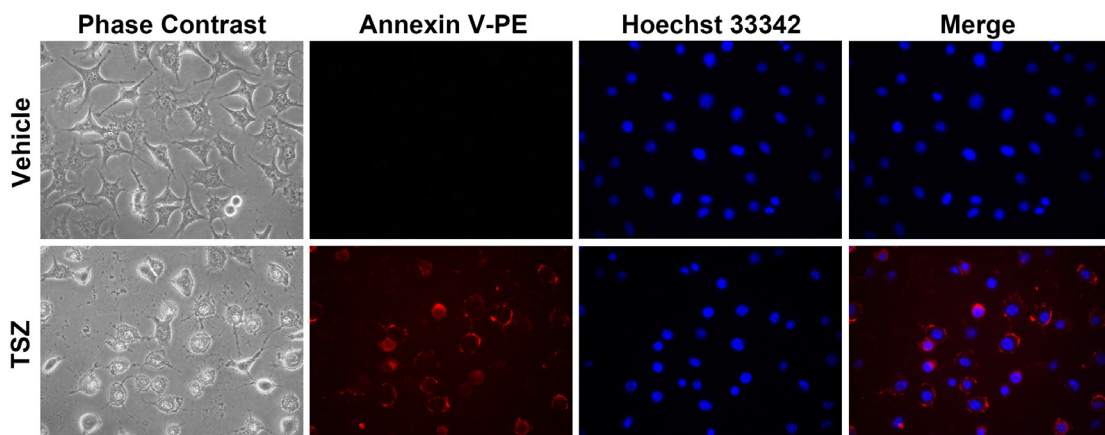


图2. Annexin V-PE的染色效果图。图中红色荧光为Annexin V-PE染色阳性细胞，蓝色荧光为Hoechst 33342标记的所有细胞的细胞核。Vehicle组为阴性对照，Annexin V-PE染色非常弱，L-929细胞处于正常状态；TSZ组为阳性对照，L-929细胞用TSZ处理4小时。TSZ为TNF α 、SM-164和Z-VAD-FMK组成的细胞坏死诱导试剂(C1058)。本图仅作参考，不同的样品不同的检测条件，实际获得的结果可能有较明显的差别。

➤ 本试剂盒小包装C1065S可以检测20个样品，中包装C1065M可以检测50个样品，大包装C1065L可以检测100个样品。

包装清单：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-----------------|-------------|
| C1065S-1 | Annexin V-PE | 100 μ l |
| C1065S-2 | Annexin V-PE结合液 | 12ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-----------------|-------------|
| C1065M-1 | Annexin V-PE | 250 μ l |
| C1065M-2 | Annexin V-PE结合液 | 30ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-----------------|-------------|
| C1065L-1 | Annexin V-PE | 500 μ l |
| C1065L-2 | Annexin V-PE结合液 | 60ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件：

4°C保存，半年有效。Annexin V-PE需避光保存。Annexin V-PE结合液可-20°C长期保存。

注意事项：

- 如果有细菌或真菌污染，会严重影响检测效果。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 需自备PBS。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 对于悬浮细胞：

- a. 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。
- b. 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。
- c. 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。
- d. 室温(20-25°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。
- e. 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。

2. 对于贴壁细胞：

- a. 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。
- b. 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。
- c. 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。
- d. 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。
- e. 室温(20-25°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。

- f. 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。

- a. (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。
- b. 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1000g离心5分钟)。
- c. 加入195 μ l Annexin V-PE结合液。
- d. 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。
- e. 室温(20-25 $^{\circ}$ C)避光孵育10-20分钟。可以使用铝箔进行避光。
- f. 随即在荧光显微镜下观察，Annexin V-PE为红色荧光。

相关产品：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-------------------------|------|
| C1052 | 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒 | 50次 |
| C1056 | 细胞凋亡与坏死检测试剂盒 | 100次 |
| C1062S | Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒 | 20次 |
| C1062M | Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒 | 50次 |
| C1062L | Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒 | 100次 |
| C1065S | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 20次 |
| C1065M | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 50次 |
| C1065L | Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒 | 100次 |
| C1067S | Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒 | 20次 |
| C1067M | Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒 | 50次 |
| C1082 | TUNEL检测阳性对照制备试剂盒 | 10次 |
| C1086 | 一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(绿色荧光) | 20次 |
| C1088 | 一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(绿色荧光) | 50次 |
| C1089 | 一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光) | 20次 |
| C1090 | 一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光) | 50次 |
| C1091 | TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(显色法) | 20次 |
| C1098 | TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(显色法) | 50次 |

使用本产品的文献：

1. Zhu K, Guo C, Lai H, Yang W, Wang C. Novel hyperbranched polyamidoamine nanoparticle based gene delivery: transfection, cytotoxicity and in vitro evaluation. *Int J Pharm.* 2012 Feb 28;423(2):378-83.
2. Ou J, Pan F, Geng P, Wei X, Xie G, Deng J, Pang X, Liang H. Silencing fibronectin extra domain A enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma involving an FAK/Akt/JNK pathway. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Mar 15;82(4):e685-91.
3. Shi S, Deng YZ, Zhao JS, Ji XD, Shi J, Feng YX, Li G, Li JJ, Zhu D, Koeffler HP, Zhao Y, Xie D. RACK1 promotes non-small-cell lung cancer tumorigenicity through activating sonic hedgehog signaling pathway. *J Biol Chem.* 2012 Mar 9;287(11):7845-58.
4. Zhu K, Lai H, Guo C, Xu D, Wang C. Novel vascular endothelial growth factor gene delivery system-manipulated mesenchymal stem cells repair infarcted myocardium. *Exp Biol Med (Maywood).* 2012 Jun 1;237(6):678-87.
5. Ou J, Luan W, Deng J, Sa R, Liang H. α V Integrin Induces Multicellular Radioresistance in Human Nasopharyngeal Carcinoma via Activating SAPK/JNK Pathway. *PLoS One.* 2012;7(6):e38737.
6. Zhu K, Guo C, Xia Y, Lai H, Yang W, Wang Y, Song D, Wang C. Transplantation of novel vascular endothelial growth factor gene delivery system manipulated skeletal myoblasts promote myocardial repair. *Int J Cardiol.* 2013 Oct 3;168(3):2622-31.
7. Li H, Qin J, Jin G, Zou L, Shi J, Han X, Cheng X, Zhang X. Overexpression of Lhx8 inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest in PC12 cell line. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2015 Apr;51(4):329-35.
8. Xu R, Bi C, Song J, Wang L, Ge C, Liu X, Zhang M. Upregulation of miR-142-5p in atherosclerotic plaques and regulation of oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis in macrophages. *Mol Med Rep.* 2015 May;11(5):3229-34.
9. Peilin Huang, Baozhen Zeng, Zhuoxian Mai, Juntao Deng, Yueping Fang, Wenhua Huang, Hongwu Zhang, Jinying Yuan, Yen Wei and Wuyi Zhou. Novel drug delivery nanosystems based on out-inside bifunctionalized mesoporous silica yolk-shell magnetic nanostars used as nanocarriers for curcumin. *J Mater. Chem. B.* 2016;4(1):46-56

Version 2018.06.01