

Technical literature is available at: [www.mesgenbio.com](http://www.mesgenbio.com). E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: [tech@mesgenbio.com](mailto:tech@mesgenbio.com)

**MESGEN**<sup>™</sup>  
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

## 产品简介

Annexin V-PE/7-AAD流式检测试剂盒是一种采用Annexin-PE与7-AAD双染法进行细胞早期凋亡分析的检测试剂盒。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被破坏。7-AAD(7-amino-actinomycin D)是一种核酸染料,可进入死细胞内与DNA结合,能够对坏死和凋亡晚期的细胞进行染色。7-ADD与PI有着相似的荧光特性,但其发射波谱较PI窄,对其他检测通道的干扰更小,在多色荧光分析中是PI的最佳替代品,因此通常将Annexin V-PE与ADD配合染色,以区别凋亡早期细胞与坏死细胞和凋亡的晚期细胞。

## 试剂盒组成

|                                   | 50 tests | 100 tests |
|-----------------------------------|----------|-----------|
| 7-AAD Viability Staining Solution | 500µl    | 1ml       |
| 4xBinding Buffer                  | 10ml     | 20ml      |
| Annexin V-PE                      | 250µl    | 500µl     |

## 操作流程

### 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。1000×g左右离心3-5分钟,沉淀细胞。对于特定的细胞,如果细胞沉淀不充分,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50µl左右的培养液,以避免吸走细胞。加入约1 ml 4°C预冷的PBS,重悬细胞,再次离心沉淀细胞,小心吸除上清。再次加入1ml 4°C预冷的PBS,重悬细胞,再次离心沉淀细胞。

b. 对于悬浮细胞:1000×g左右离心3-5分钟,沉淀细胞。对于特定的细胞,如果细胞沉淀不充分,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微升左右的培养液,以避免吸走细胞。加入约1ml 4°C预冷的PBS,重悬细胞,并转移到1.5毫升离心管内。再次离心沉淀细胞,小心吸除上清,可以残留约50µl左右的PBS,以避免吸走细胞。再次加入1ml 4°C预冷的PBS,重悬细胞,再次离心沉淀细胞。

2. 用去离子水按1:3稀释Binding Buffer(4 ml Binding Buffer+12 ml去离子水)。

3. 用250µl Binding Buffer重新悬浮细胞,调节其浓度为 $1 \times 10^6$ /ml。

4. 取100µl的细胞悬液于5ml流式管中,加入5µl Annexin V-PE和10µl 7-AAD溶液。

5. 混匀后于室温避光孵育15分钟。

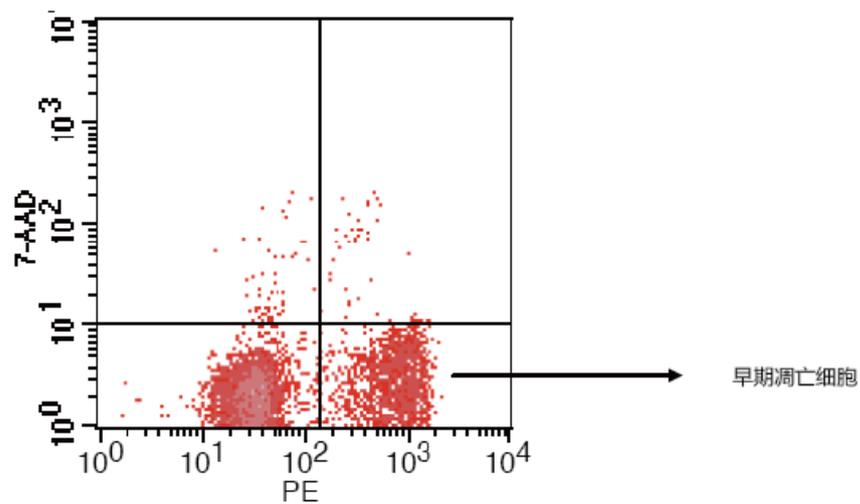
6. 在反应管中加400µl PBS,流式细胞仪(FACS)分析。

## 注意事项

1. 消化细胞时不能用含EDTA的胰酶（迈基生物提供相应胰酶溶液产品）。
2. 本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。
3. 需自备PBS（Cat.No.MG3150）和去离子水。
4. 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
5. 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 保存条件

2-8℃，避光保存。



Jurkat细胞用顺铂诱导凋亡后用Annexin V-PE/7AAD双染流式分析图谱

*For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.*