

PRODUKT INFORMATION

Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit

Art.-Nr. 39900

Produktbeschreibung:

Allgemeines Annexine sind eine Familie von Kalciumabhängigen Phospholipidbindenden Proteinen, die an Phosphatidylserin (PS) binden. Externalisierung von Phosphatidylserin-Resten an der äußeren Plasmamembran von apoptotischen Zellen ermöglicht den Nachweis über Annexin V. Sobald die apoptotischen Zellen mit dem markierten Annexin V gebunden sind, können sie mit Fluoreszenzmikroskopie oder Zytometrie sichtbar gemacht werden. Da der Verlust der Membranintegrität ein pathognomonisches Merkmal des nekrotischen Zelltods ist, werden nekrotische Zellen mit spezifischen Membranundurchlässigen Nukleinsäurefarbstoffen wie Propidiumiodid angefärbt, wobei die Membranintegrität apoptotischer Zellen durch den Ausschluss dieser Farbstoffe nachgewiesen werden kann.

Inhalt Das Kit ist ausreichend für 100 Reaktionen.

Applikation Für die Erkennen von frühen/mittleren Stadien der Apoptose sowie für die Differenzierung der Apoptose von der Nekrose.

Lagerung Lagerung bei +2 °C bis + 8 °C. Vor Licht schützen. Nicht einfrieren.

Protokoll

1. Verdünnen des 10X Annexin V-Bindungspuffer mit dH₂O auf 1X und auf Eis stellen.
2. Sedimentieren der Zellen durch Zentrifugation, anschließend die Zellen mit eiskaltem Kulturmedium oder PBS waschen.
3. Resuspendieren der Zellen in Annexin V-Bindungspuffer in einer Konzentration von 1 - 5 × 10⁶ Zellen/ml.
4. Überführen von 500 µl Zellsuspension in ein 5 ml-Teströhrchen.
5. Zugabe von 5 µl markiertem Annexin V.
6. Zugabe von 10 µl Propidiumiodid-Lösung.
7. Vorsichtiges Mischen/Vortexen der Zellen und 15 min Inkubation lichtgeschützt bei Raumtemperatur (25 ° C).
8. Wasche die Zellen in 1X-Bindungspuffer und resuspendieren in 400 µl 1X-Bindungspuffer.
9. Analyse mittels Durchflusszytometrie

Vorsicht:

Propidiumiodid steht im Verdacht, karzinogen zu sein; Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden. Tragen Sie beim Umgang mit der Lösung immer geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe

Version 07/24