

# Annexin V Binding Buffer 10X

Referencia	Size
BB10X-50ML	50 ml



## DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Se ha descrito la exposición de PS en la superficie externa de la membrana celular en células apoptóticas; esto ocurre en las primeras fases de la muerte celular apoptótica, durante las cuales la membrana celular permanece intacta. En la apoptosis leucocitaria, el PS presente en la superficie externa de la célula la marca para su reconocimiento y fagocitosis por parte de los macrófagos. En condiciones definidas de sal y calcio, la anexina V puede identificar las células apoptóticas al unirse al PS expuesto en la capa externa.

Este producto se utiliza para facilitar la unión de la anexina V a la fosfatidilserina en ensayos de apoptosis y se suministra como una solución 10X. Debe diluirse a 1X en agua desionizada antes de su uso. El pH de la solución 1X debe estar comprendido entre 7,3 y 7,4. Ajuste el pH si es necesario. Caliente la solución 1X a temperatura ambiente antes de su uso. Las muestras deben prepararse como suspensión de células individuales en un tubo adecuado.

**Uso recomendado:** El tampón de unión a anexina V de Immunostep está destinado al marcaje por citometría de flujo de células apoptóticas con reactivos de anexina V.

**Presentación:** líquido.

**Instrucciones de almacenamiento:** entre 2 °C y 8 °C.

**Reactivo suministrado:** 50 ml de concentrado 10X de 0,1 M Hepes/NaOH (pH 7,4), 1,4 M NaCl y 25 mM CaCl<sub>2</sub>.

**Recomendaciones y advertencias:** Este producto contiene azida sódica. En condiciones ácidas, se transforma en ácido hidrazoico, un compuesto altamente tóxico. Los compuestos de azida deben diluirse en agua corriente antes de desecharlos. Se recomiendan estas condiciones para evitar depósitos en las tuberías, donde podrían desarrollarse condiciones explosivas. Solo para uso profesional.

No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en el vial.

## PROTOCOLO DE TINTE DE CÉLULAS CON ANNEXINA-FITC

1. Prepare tampón de unión a anexina V 1X
2. Induzca la apoptosis en las células utilizando el método deseado. Se debe preparar un control negativo con células no tratadas, que se utilizará para definir el nivel basal de células apoptóticas y necróticas o muertas.
3. Recoja las células tras la inducción de la apoptosis y lávelas en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a temperatura ambiente.
4. Lave las células dos veces con PBS a temperatura ambiente y resuspende las en tampón de unión a anexina 1X a una concentración de  $1 \times 10^6$  células/ml.
5. Añada 5 µl de anexina V y 5 µl de PI/7-AAD a cada 100 µl de suspensión celular.
6. Incube las células a temperatura ambiente durante 15 minutos (25 °C) en la oscuridad.
7. Tras el periodo de incubación, añadir 400 µl de tampón de unión a anexina 1X. Analizar mediante citometría de flujo en el plazo de una hora.

## EJEMPLO DE PROTOCOLO PARA LA EXPRESIÓN DE ANNEXINA V EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA APOPTÓTICOS

1. Las células MN (células mononucleares) se han separado mediante Ficoll a partir de sangre periférica.
2. Inducción de la apoptosis en leucocitos mediante incubación durante 6 horas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 200 µM.
3. Se han recogido 1 millón de células tras la inducción de la apoptosis. Se retiró el sobrenadante mediante centrifugación.
4. Se añadieron 100 µl de PBS y 20 µl de anticuerpo conjugado con CD19 y se incubó durante 15 minutos.
5. Se lavaron las células una vez con PBS a temperatura ambiente y se resuspendieron en 0,5 ml de tampón de unión a anexina 1X.
6. Se añadieron 5 µl de anexina V y 5 µl de PI/7-AAD a la suspensión celular.
7. Incubar las células durante 15 minutos a temperatura ambiente y analizarlas mediante citometría de flujo.

Si se observa una tinción inesperada que no pueda explicarse por variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospeche de un problema con el producto, póngase en contacto con nuestro Servicio Técnico. (tech@immunostep.com )  
Para obtener información técnica, consulte <http://immunostep.com/content/31-support>.

## GARANTÍA

Se garantiza únicamente que el producto se ajusta a la cantidad y al contenido indicados en la etiqueta o en el etiquetado del producto en el momento de la entrega al cliente. Por la presente, Immunostep excluye cualquier otra garantía. La única responsabilidad de Immunostep se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra.

## REFERENCIAS

1. D. Herrero-Martín, D. Osuna, J. L. Ordóñez, V. Sevillano, A. S. Martins, C. Mackintosh, M. Campos, J. Madoz-Gúrpide, A. P. Otero-Motta, G. Caballero, A. T. Amaral, D. H. Wai, Y. Braun, M. Eisenacher, K.-L. Schaefer, C. Poremba y E. de Alava. La interferencia estable de EWS-FLI1 en una línea celular de sarcoma de Ewing altera la señalización de IGF-1/IGF-IR y revela a TOPK como una nueva diana. *British Journal of Cancer* (2009), 1-11.
2. Koopman, G., Reutelingsperger, C. P., Kuijten, G. A. M., Keehnen, R. M. J., Pals, S. T. y van Oers, M. H. J. 1994. Annexin V para la detección por citometría de flujo de la expresión de fosfatidilserina en células B en proceso de apoptosis. *Blood* 84: 1415.
3. Homburg, C. H., de Haas, M., von dem Borne, A. E., Verhoeven, A. J., Reutelingsperger, C. P. y Roos, D. 1995. Los neutrófilos humanos pierden su Fc gamma RIII de superficie y adquieren sitios de unión a la anexina V durante la apoptosis in vitro. *Blood* 85: 532.
4. Vermes, I., Haanen, C., Steffens-Nakken, H. y Reutelingsperger, C. 1995. Un nuevo ensayo para la detección de : detección por citometría de flujo de la expresión de fosfatidilserina en células en fase apoptótica temprana utilizando anexina V marcada con fluoresceína. *J. Immunol. Meth.* 184: 39.
5. Fadok, V. A., Voelker, D. R., Campbell, P. A., Cohen, J. J., Bratton, D. L. y Henson, P. M. 1992. La exposición de la fosfatidilserina en la superficie de los linfocitos apoptóticos desencadena el reconocimiento específico y la eliminación por parte de los macrófagos. *J. Immunol.* 148: 2207.
6. Darzynkiewicz Z, Bedner E, Traganos F. 2001. Dificultades y escollos en el análisis de la apoptosis. *Methods Cell Biol.* 2001;63:527-46.
7. Martín Pérez-Andrés, Juan J. Benito, Emilio Rodríguez-Fernández, Bruna Corradetti, Daniel Primo, Juan L. Manzano, Alberto Orfao y Julio J. Criado. *Dalton Trans.*, 2008, 6159-6164. Bisursodesoxicolato (etilendiamina)platino(II): un nuevo compuesto autofluorescente. Actividad citotóxica y análisis del ciclo celular en líneas celulares ováricas y hematológicas.

## FABRICADO POR



**Immunostep S.L**  
Avda. Universidad de Coimbra, s/n  
Centro de Investigación Oncológica  
(CIC) Campus Miguel de Unamuno  
37007 Salamanca (España)  
Tel. (+34) 923 294 827  
[www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)

## VIGILANCIA Y NOTIFICACIÓN



De con con Anexo I, el apartado 20.4.1, letra n) del Reglamento (UE) 2017/746, el usuario está obligado a notificar cualquier incidente grave relacionado con el uso del producto.

- **Al fabricante:** Póngase en contacto con nuestro Departamento de Vigilancia en [vigilancia@immunostep.com](mailto:vigilancia@immunostep.com)
- **A la autoridad competente:** Notifique a través de los canales oficiales del Estado miembro.

## EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS



Marcado CE



Producto para diagnóstico *in vitro*



Fabricante



Preste atención a