

## Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R32123-20T	Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒	20T
R32123-50T	Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒	50T
R32123-100T	Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒	100T

### 产品简介:

Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒 (Annexin V-mCherry Apoptosis Detection Kit)是用红色荧光蛋白 mCherry 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 mCherry 红色荧光, mCherry 荧光蛋白最大激发光波长为 587nm, 最大发射光波长为 610nm。Annexin VmCherry 荧光蛋白的激发光谱和发射光谱参考图 1。

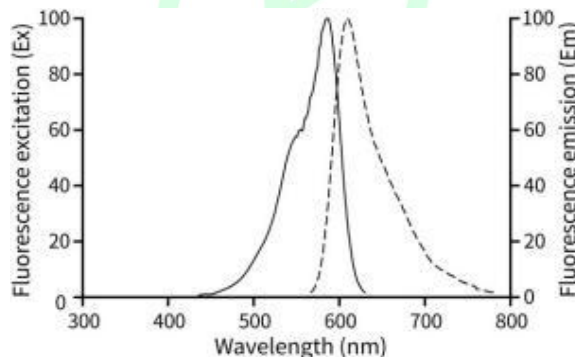


图 1. Annexin V-mCherry 的激发和发射光光谱。

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。

Annexin V-mCherry 相比藻红蛋白(Phycoerythrin, 简称 PE)标记的 Annexin V, 激发光谱更窄, 不会像 PE 那样在 495nm 左右产生红色荧光, 非常适合与其它绿色荧光一同检测, 在进行流式检测时几乎不需要进行任何补偿。

正常细胞不会被 Annexin V-mCherry 所染色, 凋亡细胞和坏死细胞都会被 Annexin V-mCherry 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。

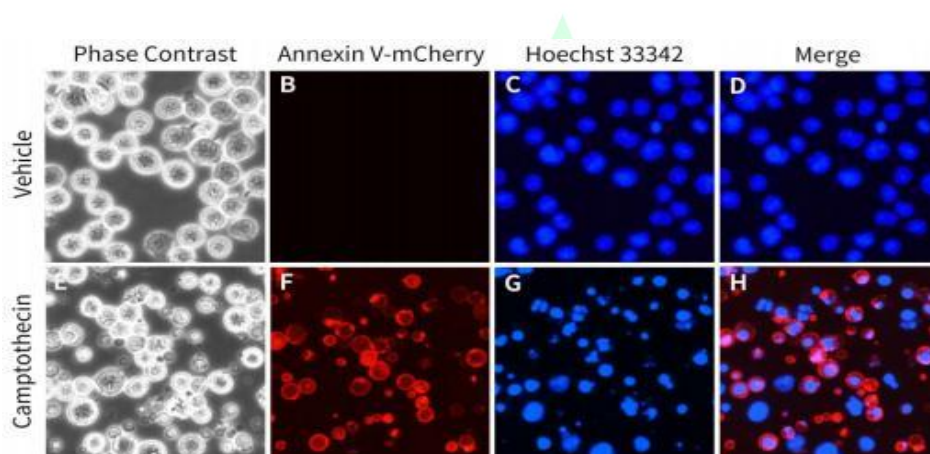


图 2. Annexin V-mCherry 细胞凋亡检测试剂盒检测 Jurkat (人 T 淋巴细胞瘤细胞)细胞凋亡的效果。正常状态的 Jurkat 细胞在明场下的形态见图 A; 正常细胞不会被 Annexin V-mCherry 所染色(图 B、D)。

Camptothecin 诱导 4 小时后的 Jurkat 细胞在明场下的形态见图 E; 凋亡细胞的细胞膜呈红色荧光(图 F、H)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 本图仅供参考。实际检测效果会因实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 本图仅供参考。

一个小包装的本试剂盒 R32123-20T 共可以检测 20 个样品, 中包装的试剂盒 R32123-50T 可以检测 50 个样品, 大包装的试剂盒 R32123-100T 可以检测 100 个样品。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32123-20T	Annexin V-mCherry	100μl
	Annexin V-mCherry Binding Buffer	12ml
—	说明书	1 份



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

产品编号	产品名称	包装
R32123-50T	Annexin V-mCherry	250 $\mu$ l
	Annexin V-mCherry Binding Buffer	30ml
—	说明书	1 份

产品编号	产品名称	包装
R32123-100T	Annexin V-mCherry	500 $\mu$ l
	Annexin V-mCherry Binding Buffer	60ml
—	说明书	1 份

#### 保存条件:

-20°C 保存, 一年有效。

#### 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-mCherry, 最终导致染色失败。

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, 1000 $\times$ g (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-mCherry 的结合。

b. 取 5-10 万重悬的细胞, 1000 $\times$ g 离心 5 分钟, 弃上清, 加入 195 $\mu$ l Annexin V-mCherry Binding Buffer 轻轻重悬细胞。



- c. 加入 5 $\mu$ l Annexin V-mCherry, 轻轻混匀。
- d. 室温(20-25 $^{\circ}$ 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-mCherry 为红色荧光。如果用于荧光显微镜下检测, 1000 $\times$ g 离心 5 分钟, 收集细胞, 用 50-100 $\mu$ l Annexin V-mCherry Binding Buffer 轻轻重悬细胞, 涂片后, 荧光显微镜下观察。注意: 细胞在染色后须尽快完成检测, 通常宜在 1 小时之内完成检测。用于流式细胞仪检测时, 如果发现 Annexin V-mCherry 单独染色时出现了过多的其它通道假阳性细胞, 并且通过调整相关设置和参数也无法改善, 可以用 PBS 将 Annexin V-mCherry 稀释 3-10 倍后再进行检测。

## 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, 1000 $\times$ g 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-mCherry 导致染色失败。
- c. 取 5-10 万重悬的细胞, 1000 $\times$ g 离心 5 分钟, 弃上清, 加入 195 $\mu$ l Annexin V-mCherry Binding Buffer 轻轻重悬细胞。
- d. 加入 5 $\mu$ l Annexin V-mCherry, 轻轻混匀。
- e. 室温(20-25 $^{\circ}$ 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-mCherry 为红色荧光。如果用于荧光显微镜下检测, 1000 $\times$ g 离心 5 分钟, 收集细胞, 用 50-100 $\mu$ l Annexin V-mCherry Binding Buffer 轻轻重悬细胞, 涂片后, 荧光显微镜下观察。注意: 细胞在染色后须尽快完成检测, 通常宜在 1 小时之内完成检测。用于流



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

式细胞仪检测时，如果发现 Annexin V-mCherry 单独染色时出现了过多的其它通道假阳性细胞，并且通过调整相关设置和参数也无法改善，可以用 PBS 将 Annexin V-mCherry 稀释 3-10 倍后再进行检测。

### 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 1000×g 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 1000×g 离心 5 分钟。

c. 加入 195μl Annexin V-mCherry Binding Buffer。

d. 加入 5μl Annexin V-mCherry，轻轻混匀。

e. 室温(20-25℃)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-mCherry 为红色荧光。注意：细胞在染色后须尽快完成检测，通常宜在 1 小时之内完成检测。

