

7-AAD 染色试剂盒

Cell Apoptosis 7-AAD Detection Kit

说明书修订日期: 2015.07.13

Cat number: KGA219

Store at 2-8°C for 12 months

For Research Use Only (科研专用)

一、试剂盒说明

7-AAD (7-amino-actinomycin D) 是一种核酸染料, 它不能通过正常质膜, 随着细胞凋亡、细胞死亡过程, 质膜对7-AAD的通透性逐渐增加, 结合细胞凋亡中DNA的有控降解, 在合适波长激发光的激发下可发出明亮的红色荧光, 通过7-AAD标记DNA的强弱, 将细胞分为三群: 7-AAD强为死亡细胞, 7-AAD弱是凋亡细胞, 7-AAD-为正常活力细胞。7-AAD同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, 可与Annexin V-EGFP/FITC/PE联合使用。

本试剂盒适用于培养的细胞染色, 可应用于荧光显微镜、激光共聚焦计或流式细胞仪检测。

二、试剂盒组份

组分	KGA219 100 assays	储存条件
7-AAD 染液	0.5 mL	2-8°C, 避光
10×Assays Buffer	5 mL	2-8°C

1×Assays Buffer 工作液配制: 用前将 10×Assays Buffer 用双蒸水稀释 10 倍。

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

流式细胞仪、激光共聚焦或荧光显微镜:

激发波长 546nm, 发射波长 647 nm, 微量移液器、1.5ml Micro-tube、载玻片

四、使用注意事项

1. 微量试剂取用前请离心集液。
2. 7-AAD 避光保存及使用。
3. 7-AAD 为潜在致癌物, 操作时请采取防护措施, 穿防护服、戴手套等。
4. 本试剂盒适用于检测活细胞, 流式细胞仪检测时, 细胞数量不应低于 1×10^5 , 不推荐用于检测组织样本。

五、操作方法

1. 悬浮细胞离心 (2000rpm 离心 5min) 收集; 贴壁细胞用胰酶消化收集用 PBS 洗涤细胞二次 (2000rpm 离心 5min) 收集 $1 \sim 5 \times 10^5$ 细胞;
2. 在 50 μ L 的 1×Assays Buffer 中加入 5 μ L 7-AAD 染液, 混匀;
3. 收集细胞中加入上述 7-AAD 染液, 混匀; 室温、避光、反应 5~15min;
4. 加入 450 μ L 的 1×Assays Buffer 悬浮细胞;
5. 请在 1 hour 内, 进行下述荧光显微镜或流式细胞仪的观察和检测。

A. 荧光显微镜观察

1. 滴一滴上述染色后的细胞悬液于载玻片上, 并用盖玻片盖上细胞;

2. 对于贴壁细胞来说，也可直接用盖玻片来培养细胞并诱导细胞凋亡；
 - ① 将细胞于盖玻片上生长，用适当的凋亡诱导剂诱导细胞凋亡，并设立阴性对照组；
 - ② 用 PBS 洗涤细胞两次；
 - ③ 在 50 μ L 的 1 \times Assays Buffer 中加入 5 μ L 7-AAD 染液，混匀；
 - ④ 将上述溶液滴加于盖玻片表面，使长有细胞的盖玻片表面均匀覆盖；
 - ⑤ 避光、室温反应 5 min。
3. 将盖玻片倒置于载玻片上，于荧光显微镜下观察激发波长 546nm，发射波长 647 nm，7-AAD 荧光信号呈红色。

B. 流式细胞仪分析

用流式细胞仪检测，激发波长 Ex=546 nm；发射波长 Em=647 nm。7-AAD 红色荧光建议使用 FL3 通道检测。

凯基相关产品（详见凯基网站 www.keygentec.com.cn）

细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

- 人类肿瘤细胞株
- 鼠肿瘤细胞株
- 正常细胞株
- 肿瘤耐药细胞株
- 细胞培养相关产品

细胞凋亡

一、细胞凋亡研究试剂盒

- Annexin V-FITC/ EGFP/PE 细胞凋亡检测试剂盒
- TUNEL 凋亡原位检测系列试剂盒
- Caspase 系列细胞凋亡检测试剂盒
- 线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1）
- DNA Ladder 检测试剂盒

二、细胞凋亡相关抗体

三、凋亡诱导剂、抑制剂

四、氧化应激损伤检测试剂盒

五、细胞凋亡研究辅助试剂

细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

- 凯基细胞周期检测试剂盒
- MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
- XTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂
- WST-1 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
- CFSE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

细胞染色产品

- 活细胞/凋亡细胞/坏死细胞鉴别试剂盒（AO/EB 法, 荧光显微镜）
- 凯基细胞凋亡形态学检测试剂盒
- 罗丹明 123 染色试剂盒 DAPI 染色试剂盒
- Hoechst 33258 染色试剂盒 Hoechst 33342/PI 双染试剂盒
- 吖啶橙染色试剂盒 EB 染色试剂盒
- PI 染色试剂盒 7-AAD 染色试剂盒

亚细胞组分制备