

7-AAD Viability Staining Solution

Cat#CF0133

产品概述

7-AAD 细胞活力检测试剂盒 (7-AAD Cell Viability Assay Kit) 是一种基于远红外荧光探针 7-AAD 特异性染色细胞膜丧失完整性的坏死细胞的试剂盒。能够与 Annexin V-FITC/EGFP/PE、Calcein AM 等联用而检测细胞凋亡与坏死或细胞死活, 适用于流式细胞仪、荧光显微镜或其它荧光检测设备。

7-AAD, 英文全称为 7-aminoactinomycin D, 中文名称为 7-氨基放线菌素 D, 是一种能够嵌入核酸的荧光指示剂, 形成的 DNA 复合物在 546 nm 激发光下产生 647 nm 的最大发射光。7-AAD 和碘化丙啶 (PI) 类似, 是一种非细胞膜渗透性的荧光染料, 不能穿过具有生物活性的细胞质膜, 因此被用来区分正常细胞与坏死细胞, 也可以用于细胞固定或通透后的核酸染色。与 PI 不同的是, 7-AAD 被 546 nm 的氩离子激光激发后, 其发射光谱较 PI 窄, 且发射波长更长, 对其它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。7-AAD 在光谱的 600 nm 左右有较弱荧光, 可用一般的荧光显微镜检测红色荧光, 而在远红光 650 nm 左右有较强荧光, 可用流式细胞仪 FL3 通道或配备 650 nm 长通滤光片的荧光显微镜检测远红外荧光。

表 1 7-AAD 的光谱特征

产品编号	产品名称	Ex	Em	MW
CF0133	7-AAD Viability Staining Solution	546 nm	647 nm	1270.45

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
7-AAD Viability Staining Solution	CF0133-150T	150 T

储存方式

2~8°C 避光保存。

使用说明

注意事项

- 如果有细菌或真菌污染, 可能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坏死细胞的数量增加。
- 细胞经固定、通透和 RNase 处理后也可以使用 7-AAD 检测细胞周期, 但更常用的是碘化丙啶(PI)。
- 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。

操作步骤

染色工作液配制

按照 96 孔板每孔 100 μ L 7-AAD 染色工作液的体系, 使用合适的缓冲液如无血清培养液、HBSS 或 PBS 按每 5 μ L 7-AAD 加入 95 μ L 缓冲液的比例稀释 7-AAD, 参考下表配制适量的 7-AAD 染色工作液, 需充分混匀。

试剂名称	1 个样品	10 个样品	100 个样品
7-AAD	5 μ L	50 μ L	0.5 mL
缓冲液	95 μ L	950 μ L	9.5 mL
7-AAD 染色工作液	100 μ L	1 mL	10 mL

- 【注】： 1. 为得到比较理想的结果，可根据细胞类型和实际情况对 7-AAD 在 10-100 稀释倍数之间进行适当调整。
2. 配制 7-AAD 染色工作液时注意避光，且须现配现用，不能长期保存。

细胞准备

1. 悬浮细胞：细胞按照实验设计进行一定处理后，计数。取适当细胞 $600\times g$ 室温离心 5 min，弃上清，用 PBS 洗涤一次。每个样品推荐细胞用量为 1×10^6 。
2. 贴壁细胞：把细胞培养液吸出至一合适离心管内，PBS 洗涤贴壁细胞 1 次，加入适量胰酶消化液（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。需避免胰酶过度消化。细胞合并，加入上述收集的细胞培养液，把细胞轻轻吹打下来，转移到离心管内， $600\times g$ 离心 5 min，弃上清，收集细胞，用 PBS 洗涤细胞一次，然后用 PBS 重悬细胞并计数。

【注】：加入上述收集的细胞培养液非常重要，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。

染色和检测

1. 染色：对于上一步骤的 1×10^6 个细胞的沉淀，加入 1 mL 7-AAD 染色工作液，重悬为单细胞悬液。 37°C 孵育细胞 5-15 min，不同细胞最佳孵育时间不同。可根据自己实验的细胞进行优化得到最佳的效果。

【注】：需要准备好仅含缓冲液的细胞样品用作流式细胞仪检测时的阴性对照，该缓冲液与配制 7-AAD 染色工作液的缓冲液宜保持一致。

2. 检测：孵育结束后可直接使用流式细胞仪检测，或将细胞铺开于孔板、细胞培养皿或者细胞爬片上，在荧光显微镜下观察。7-AAD 插入 DNA 后的最大激发光波长为 546 nm，最大发射光波长为 647 nm。

【注】：在检测前，也可将细胞用 PBS 洗涤 2-3 次，最后用每个样品加入 0.5-1 mL 检测缓冲液重悬细胞后用于检测，这样效果更好。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH