

7-AAD 细胞周期检测试剂盒

Catalog No.	Size
FXP031-050	50 Tests
FXP031-100	100 Tests
FXP031-200	200 Tests

相关介绍:

7-AAD (7-Aminoactinomycin D) 可以进入死细胞内与 DNA 结合。因此用 7-AAD 染色可在流式细胞仪上鉴别死活细胞。通常用 FL3 检测 7-AAD 染色的死细胞。

本试剂盒通常应用于培养的贴壁或悬浮细胞的细胞周期检测。如果用于组织的细胞周期检测，则必须把组织消化成单细胞状态，才可以进行检测。

本试剂盒每个样品的细胞数量可以为 500 万以上。

储存条件:

7-AAD 染色液 (25X) 需避光保存。染色缓冲液和碘化丙锭溶液 25X 4℃ 保存，RNase -20℃ 保存。12 个月内有效。

注意事项:

本试剂盒需使用流式细胞仪进行检测。

需自备 PBS、95% 乙醇，RNase A。

荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

试剂盒组份:

1. 染色缓冲液

体积: 50 Tests: 5ml

100 Tests: 10ml

200 Tests: 20ml

2. 7AAD 溶液 25X

体积: 50 Tests: 0.2ml

100 Tests: 0.4ml

200 Tests: 0.8ml

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No. Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com

使用说明：

1. 细胞样品的准备：

a. 对于贴壁细胞：小心收集细胞培养液到一离心管内备用。用胰酶消化细胞，至细胞可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时，加入前面收集的细胞培养液，吹打下所有的贴壁细胞，并轻轻吹散细胞。再次收集到离心管内。1000rpm左右离心3-5分钟，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约50 微升左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约1 毫升冰浴预冷的PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清。再次加入1毫升冰浴预冷的PBS，重悬细胞。

b. 对于悬浮细胞：1000rpm 左右离心 5 分钟，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50 微升左右的培养液，以避免吸走细胞。加入约 1 毫升冰浴预冷的 PBS，重悬细胞，并转移到 1.5 毫升离心管内。再次离心沉淀细胞，小心吸除上清，可以残留约 50 微升左右的 PBS，以避免吸走细胞。再次加入 1 毫升冰浴预冷的 PBS，重悬细胞。

2. 细胞固定：取 4 毫升冰浴预冷的 95%乙醇，低速涡旋震荡的同时逐滴加入 1 毫升细胞悬液（在冰上操作），混匀后 4℃固定 2 小时或更长时间。固定 12-24 小时可能效果更佳。1500rpm 左右离心 5 分钟，沉淀细胞。对于特定的细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当延长离心时间或稍稍加大离心力。小心吸除上清，可以残留约 50 微升左右的乙醇，以避免吸走细胞。加入约 5 毫升冰浴预冷的 PBS，重悬细胞，再次离心沉淀细胞，小心吸除上清，可以残留约 50 微升左右的 PBS，以避免吸走细胞。轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

3. 7-AAD 染色液的配制：参考下表，根据待检测样品的数量配制适量的 7-AAD 染色液：

	1 个样品	6 个样品	12 个样品
染色缓冲液	0.1ml	0.6ml	1.2ml
7-AAD(25X)	4μl	24μl	48μl
RNase A(2.5mg/ml)	2μl	12μl	24μl

注：配制好的 7-AAD 染色液短时间内可以 4℃保存，宜当日使用。

4. 染色：每管细胞样品中加入0.1 毫升7-AAD染色液，缓慢并充分重悬细胞沉淀，37℃避光温浴30分钟。随后可以4℃或冰浴避光存放。加入PBS，1500rpm 左右离心5 分钟，沉淀细胞。染色完成后宜在24小时内完成流式检测，最好能在当日完成流式检测。

5. 流式检测和分析：用流式细胞仪在激发波长488nm,发射波长647nm，同时检测光散射情况。采用适当分析软件进行细胞DNA 含量分析和光散射分析。

4A Biotech Co., Ltd.

Add: No.Room 201, building 17, No. 8, Jinfeng Road, science and Technology City, Gaoxin District, Suzhou
Website: www.4abio.net Toll Free (China only): 400-7060-959 Technical support: tech@4abio.com