



细胞周期检测试剂盒(7-AAD)

组份编号	产品组成	规格	储存条件
RK1011A	7-AAD 染液	250ul	-20℃避光
RK1011B	Rnase A 溶液	500ul	-20℃保存
RK1011C	10*Buffer	1.5ml	-20℃保存

产品简介:

本细胞周期检测试剂盒是利用细胞内 DNA 能够和荧光染料结合的特性, 细胞各个时期其DNA 含量不同从而结合的荧光染料不同, 流式细胞仪检测的荧光强度也不一样来检测细胞周期。

细胞周期 (cell cycle)是指细胞从前一次分裂结束起到下一次分裂结束为止的活动过程, 通常由G0/G1 期、S 期、G2 期和M 期组成。G1 期: 细胞开始RNA 和蛋白质的合成, 但DNA含量仍保持二倍体。S 期: DNA 开始合成, 这时细胞核内DNA 的含量介于G1 期和G2 期之间。当DNA 复制结束成为4 倍体时, 细胞进入 G2 期。G2 期的细胞继续合成 RNA 及蛋白质, 直到进入M 期。因此, 单纯从DNA 含量无法区分G2 期和M 期。一旦有丝分裂发生, 细胞分裂成两个细胞, 这两个细胞或者进入下一个细胞周期, 或者进入静止期 (G0 期), 而 G0 期从 DNA 含量上同样无法与 G1 期区分。因此, 整个复制周期可以描述为G0/G1、S、G2/M 期。通过核酸染料PI 标记DNA,并由流式细胞仪进行分析, 可以得到细胞各个时期的分布状态, 计算出 G0/G1%、S%、G2/M%, 了解增殖能力, 在肿瘤病理学研究中, 通常以S 期细胞比率作为判断肿瘤增殖状态的指标

7AAD 为插入性核酸荧光染料, 能选择性的嵌入核酸 DNA 双链螺旋的碱基之间与之结合, 其结合的量与DNA 的含量成正比关系, 用流式细胞仪进行分析, 就可以得到细胞周期各个阶段的 DNA 分布状态, 从而计算出各个期的百分含量。7-AAD 染色后, 假设 G0/G1期细胞的荧光强度为 1, 那么含有双份基因组 DNA 的 G2/M 期细胞的荧光强度的理论值为2, 正在进行 DNA 复制的 S 期细胞的荧光强度为 1-2 之间。

一般细胞周期检测试剂盒采用 PI 染色, 但是由于 PI 的发射波长是<625nm,通常在 FL2 中检测,对 FITC、PE 的干扰大。PI 由于波谱较宽, 同时在 FL2/FL3 中也能测, 所以用了 PI 最多再加一个 FITC, FL3 就没法用了。PI 还有一个重要的缺点是不容易清洗干净,使用后清洗流式细胞仪更加费时费物。

7-AAD 细胞周期试剂盒有效的解决了这些弊端, 7-AAD 的发射波长是 650nm,只占用 FL3 通道进行检测, FITC、PE 两个通道受影响都小, 可以做三色分析。

注意事项:

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验, 以优化实验条件, 取得最佳实验效果。
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖和管内壁上的液体离心至管底, 避免开盖时试剂损失。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
4. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
5. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿, 可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
6. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
7. 染料短期2 周内可以2-8℃保存。染料长期不用可以-20℃保存。避免反复冻融。
8. 染色液A 为DMSO 溶液, 冬季气温较低时为凝固状态, 极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解, 变成液体状态后离心至管底部再开盖。
9. 可以用手捂住使其融解或37℃短时间水浴。吸头也需要放在培养箱预热, 否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
10. 试剂拆封后请尽快使用完!



细胞处理:

- 1.细胞处理需要小心操作,尽量避免人为的损伤细胞。
- 2.最好使用含 EDTA 的细胞消化液。
- 3.洗涤细胞离心转速不可超过 $800 \times g$ 。

使用方法

1. 收集样本细胞, 细胞数量在 $5-10 \times 10^6$ 个。
2. 用 ddH₂O 将 10*Buffer (R K 1 0 1 1C 组份) 按 1:10 配制成 Buffer 工作液。
3. 用 500ul 冷 Buffer 工作液 重悬细胞。
4. 加入 Rnase A 溶液 10ul。
5. 加入 5ul 7-AAD 染液, 充分混匀, 4℃ 避光孵育 30 分钟。
6. 流式检测结果。激发波长为 488nm。发射波长 647nm。采用适当分析软件进行细胞 DNA 含量分析和光散射分析。

常见问题分析:

- 1.染色后找不到细胞?
固定细胞可能难以离心沉淀; 固定细胞可能成团; 固定细胞膜容易损伤成碎片。操作过程中注意以上几点。
- 2.可以不固定细胞吗?
本试剂盒可以用于非固定细胞的周期检测。