

Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C1379S	Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒	100次
C1379M	Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒	500次

产品简介:

- 碧云天研发生产的Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒(Beyo3D™ 7-AAD Cell Viability Assay Kit), 是基于远红(Far-red)荧光探针7-AAD (7-aminoactinomycin D)可以特异性染色细胞球或类器官中丧失细胞膜完整性的坏死细胞而开发的一种细胞活力检测试剂盒。本试剂盒可快速、便捷、特异地对3D培养的细胞球或类器官中坏死细胞的细胞核染色。仅需染色10分钟, 就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的坏死细胞细胞核远红荧光染色。本试剂盒可与Beyo3D™ Annexin V-FITC/EGFP/PE、Calcein AM等联用而用于3D细胞凋亡与坏死或死活的检测。本试剂盒适用于荧光显微镜、荧光酶标仪及其它荧光检测系统。
- 7-AAD, 英文全称为7-aminoactinomycin D, 中文名称叫做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546nm激发光下能够产生647nm的最大发射光, 这一特性使其常用于多色荧光显微镜或流式细胞实验中。
- 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, 也可以被用于细胞固定或通透后的核酸染色。与碘化丙啶(PI)不同的是, 被546nm的氩离子激光激发后, 7-AAD的发射光谱较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, 可与多种488激发光激发的荧光染料联合使用, 如FITC (异硫氰酸荧光素)、PE (藻红蛋白)、APC (别藻蓝蛋白)、Calcein AM等, 在光谱的600nm左右有较弱的荧光, 可用一般的荧光显微镜检测红色荧光, 而在远红光650nm左右有较强的荧光, 可用流式细胞仪FL3通道或配备650nm长通滤光片的荧光显微镜检测远红荧光。
- 7-AAD的分子式为C₆₂H₈₇N₁₃O₁₆, 分子质量为1270.45, CAS number为7240-37-1。插入DNA后的最大激发光波长为546nm, 最大发射光波长为647nm。
- **本试剂盒适用范围广。**本试剂盒可用于常规方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。
- **本试剂盒使用便捷, 整个检测过程仅需约10-30分钟即可完成。**3D细胞球经凋亡、坏死等诱导处理后, 将本试剂盒中的Beyo3D™ 7-AAD染色液(100X)用检测缓冲液按照比例配制成Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液, 避光孵育10分钟, 就可进行后续的荧光显微镜拍照等荧光检测和分析。
- 本试剂盒内提供检测缓冲液, 可以简单便捷地进行细胞坏死检测, 同时又能维持正常细胞的状态。使用本产品联合Beyo3D™ Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1383)和Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)检测细胞凋亡与坏死的效果参考图1。使用本产品联合Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X) (C1367)和Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)检测细胞活力与坏死的效果参考图2。

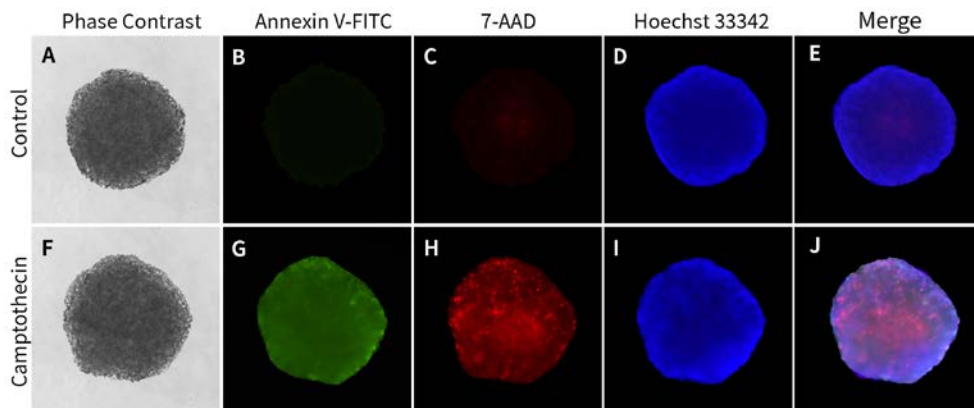


图1. 碧云天Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒(C1379)联合Beyo3D™ Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1383)和Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养48小时, 100μM Camptothecin (Topoisomerase抑制剂) (SC0141)诱导细胞球凋亡、坏死过夜, 然后吸除培养液后直接加入1X的Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液(和Annexin V-FITC染色液混合配制在一起), 染色15分钟。结果显示, Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒对于药物诱导坏死后的3D细胞染色效果清晰、明亮, Annexin V-FITC染色的凋亡细胞膜可见明显差别(B、G), 7-AAD染色的3D细胞球内部坏死更严重一些(H、

J), 同时Control组无明显7-AAD荧光染色(C、E), Hoechst 33342染色的细胞核总体基本一致(D、I)。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

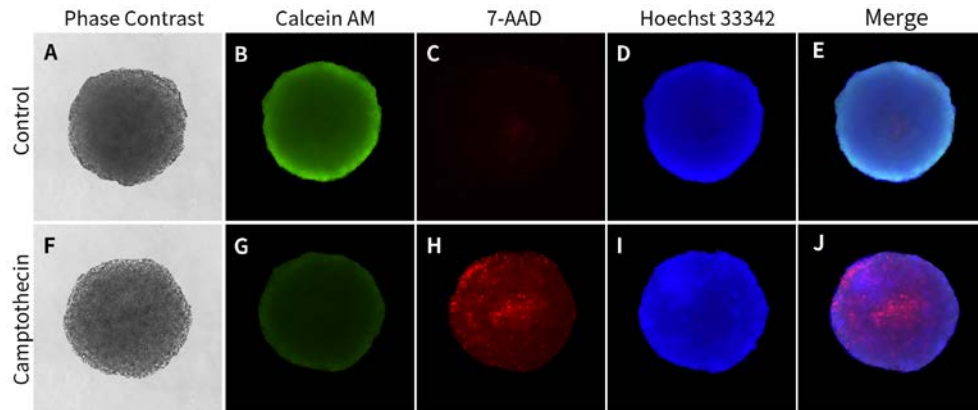


图2. 碧云天Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒(C1379)联合Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X) (C1367)和Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)对于3D培养的HCT-116细胞的染色效果图。5000个HCT-116细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养48小时, 100μM Camptothecin (SC0141)诱导细胞球凋亡、坏死过夜, 然后吸除培养液后直接加入1X的Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液(可以和Beyo3D™ Calcein AM染色液混合配制在一起), 染色10分钟。结果显示, Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒对于药物诱导坏死后3D细胞染色效果清晰、明亮, Calcein AM染色的活细胞可见明显差别(B、G), 7-AAD染色的3D细胞球内部坏死更严重一些(H、J), 同时Control组无明显7-AAD荧光染色(C、E), Hoechst 33342染色的细胞核总体基本一致(D、I)。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反应细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少, 形成自然的营养和氧气梯度, 能更好地模拟体内微环境条件, 因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤, 更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究, 也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时, 2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性, 在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性, 出现优势克隆选择性, 从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型, 3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更可信的研究结果, 简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今, 3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统, 并成为生命科学最热门的领域之一。
- 按照96孔板每孔需要100μl Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液, 本试剂盒小包装可以进行100个样品的检测, 中包装可以进行500个样品的检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C1379S-1	Beyo3D™ 7-AAD染色液(100X)	100μl
C1379S-2	检测缓冲液	10ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C1379M-1	Beyo3D™ 7-AAD染色液(100X)	500μl
C1379M-2	检测缓冲液	50ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。Beyo3D™ 7-AAD染色液(100X)须避光保存。

注意事项:

- 须配备可以检测650nm波长的荧光显微镜以检测7-AAD的远红荧光。
- 本产品反复冻融可能会降低染色效果, 为保证最佳使用效果, 请尽量避免反复冻融, 第一次解冻后可以适当分装保存。
- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散, PBS洗涤及换液等过程须轻柔, 避免破坏或吹散3D细胞球。

- 不同种类的细胞球对凋亡或坏死诱导剂的耐受可能存在一定的差别，3D细胞球经凋亡或坏死诱导后，形态可能会发生一些变化，在染色前可以镜下观察细胞球的形态，可以酌情考虑是否选择形态比较完整的细胞球进行染色分析。
- 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
- 如果有微生物污染，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数量增加。
- 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：

本步骤以96孔板，每孔接种100 μ l细胞为例，如使用其它类型的多孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100 μ l细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞，并按照实验设计进行一定的处理。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)(C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™ 超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™ 超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖，独立包装)(FULA965)等。

注：为达到最佳的染色效果，具体的细胞球培养时间、药物等干预时间可以根据细胞种类、具体的实验需求等进行调整。例如，对于HCT-116细胞，通常接种培养48小时形成较为紧实的细胞球后进行干预和染色效果较好。

2. 3D细胞7-AAD染色。

a. **Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液的用量：**对于6、12、24、96孔板，每孔Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液的用量分别为0.5~1ml、200~500 μ l、100~200 μ l和50~100 μ l。

b. **Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液的配制：**如下表所示，按照每孔需要100 μ l Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液的量，用检测缓冲液稀释配制适量的Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液。

样品数	10 samples	50 samples	100 samples
Beyo3D™ 7-AAD染色液(100X)	10 μ l	50 μ l	100 μ l
检测缓冲液	0.99ml	4.95ml	9.9ml
Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液	1ml	5ml	10ml

注1：配制好的Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液必须一次使用完毕，不能冻存。

注2：Beyo3D™ 7-AAD染色液的最终浓度可以根据不同细胞系和实验体系通过预实验进行优化。Beyo3D™ 7-AAD染色液的工作浓度通常为0.5-2X，推荐使用浓度为1X。

c. **染色：**小心吸除原有细胞培养液，沿着孔壁缓慢加入100 μ l Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测工作液，在适宜于细胞培养的温度避光孵育10分钟。

注1：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

注2：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。3D细胞球通常位于在培养板或培养皿等培养器皿的底部，培养板在对着光线时能看到孔内针尖大小的乳白色细胞球，吸除孔内液体时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。可以根据孔内液体的体积将移液器调至合适的量程，例如需要吸除的液体体积为100 μ l，将200微升移液器的量程调整到50-70微升，避开细胞球从液体边缘缓慢、分次吸除。孔内加入液体时，沿着孔壁小心、缓慢加入，避免破坏或吹散3D细胞球。

3. 荧光检测。

a. **荧光显微镜检测。**孵育结束后，小心去除孔内染色液，沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次并更换为完全培养液，随后在荧光显微镜下观察荧光染色效果。注意整个过程均需注意避光操作。

注1：须配备650nm长通滤光片的荧光显微镜检测远红光。

注2：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。

b. **荧光酶标仪检测。**孵育结束后，小心吸除孔内染色液，沿着孔壁缓慢加入适量的PBS洗涤细胞球1次并更换为完全培养液，随后用荧光酶标仪检测(7-AAD为红色荧光，Ex/Em=546/647nm)。通过对比对照组荧光探针的RFU (Relative fluorescence units)，可以计算出正常细胞与坏死细胞的相对比例关系。

注：任何液体吸除或加入的过程须轻缓，避免破坏或吹散3D细胞球。

参考文献：

1. Kapał czyńska M, Kolenda T, Przybył a W, Zają czkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
2. Riedl A, Schleder M, Pudenko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
3. Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
4. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
5. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0365	3D细胞培养板包被液	20/100ml
C0366S	3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)	5p/1ts

C0049	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100/500/2500次
C0061	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100/500/2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 含酚红)	1/5/10/50ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C1341	Beyo3D™ DAPI染色液	10/50/200ml
C1345	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10/50/200ml
C1352	Beyo3D™ PI染色液	10/50/200ml
C1356	Beyo3D™ YO-PRO-1染色液	10/50/200ml
C1363	Beyo3D™ YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100/500次
C1367	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1/0.5/2ml
C1371	Beyo3D™ Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100/500次
C1375	Beyo3D™ Calcein/PI/Hoechst细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1379	Beyo3D™ 7-AAD细胞活力检测试剂盒	100/500次
C1383	Beyo3D™ Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1387	Beyo3D™ Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1391	Beyo3D™ Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
C1395	Beyo3D™ Annexin V-mCherry细胞凋亡检测试剂盒	20/50/100次
C1399	Beyo3D™ Annexin V-mCherry/SYTOX Green 细胞凋亡检测试剂盒	20/50次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板 (平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2024.10.12