

## 细胞活性检测试剂盒(荧光法) 1000T

### 一般说明

该检测法只需将一种反应试剂加至细胞培养液中，培养后即可测定荧光强度（激发波长= 530 - 570 nm，发射波长= 590 - 620 nm）。CellQuanti-Blue™试剂，与其它基于刃天青的检测法相同，采用的是氧化还原显色剂刃天青，刃天青本身并没有荧光性，但一旦被具有代谢活性的细胞还原，则会转化生成一种强荧光产物。活细胞很容易还原这种无毒试剂，从而使荧光强度升高，因此可用荧光分光光度计或荧光分析仪方便地检测。非活性细胞没有代谢能力，因此不能还原该显色剂。所以检测中观察到的荧光强度能够准确检测活性细胞的数量。本试剂盒经优化处理，提高了敏感性、可重复性、稳定性。这种基于细胞的匀相检测法可在多孔板中完成。该试剂与所有培养基以及所有液体处理系统都兼容，可在96孔板和384孔板中进行高通量筛选。适用范围包括细胞增殖、细胞毒性和细胞凋亡。可准确定量低至100个细胞。

### 适用范围

细胞增殖: 细胞因子、生长因子和营养成分对活体细胞的影响。

### 试剂盒组成

|      |
|------|
| 反应试剂 |
| 10mL |

对照试剂: 50 mg皂素（需自行订购）。

储存: 反应试剂对光敏感，应在4°C下保存于棕色瓶内。对照试剂在-20°C下保存。

### 检测步骤

本检测是基于具有代谢活性的细胞能将非荧光试剂转化成荧光产物的原理。对大多数细胞而言，完成这种还原反应需要1至5小时酚红不会干扰检测结果。技术要点中的所有数据都是在含有酚红的培养基中测得的。

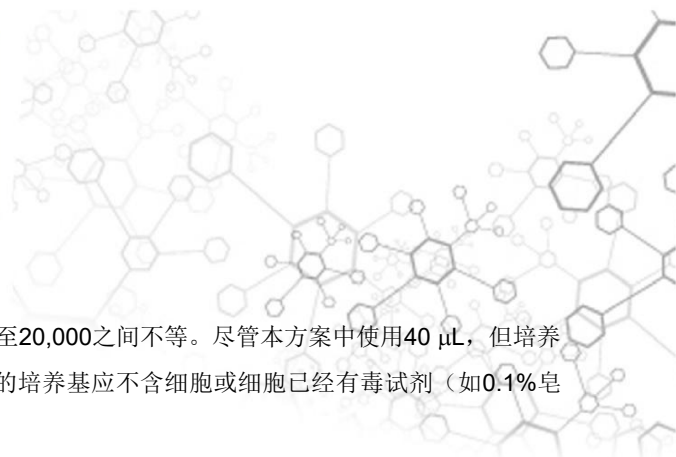
### 试剂制备:

注: 使用前先将反应试剂放置至室温。

### 96孔板检测步骤:

1. 在黑色96孔组织培养板中培养细胞（80 μL）。典型的培养基含DMEM、10%胎牛血清和抗生素（青霉素/链霉素、庆大霉素等）、氨基酸和其它营养物。不论是粘附细胞还是悬浮细胞，都可进行检测。每孔的细胞数量可从100至80,000个之间不等。尽管本方案中使用80 μL，但培养体积可从50至150 μL之间不等。除待测样品外，还应设定对照孔，对照孔的培养基应不含细胞或细胞已经有毒试剂（如0.1%皂素）处理过。
2. 加入待测化合物和对照品，培养细胞至所需的时间（通常一整夜）。建议一式两份或一式三份进行检测。可将待测化合物和对照品（20 μL）加入到磷酸盐缓冲盐水（PBS）或培养基中。用5 mL PBS（0.1%皂素）溶液方便地配制对照试剂。
3. 将反应试剂放置至室温。向每孔中加入10 μL该试剂（每100 μL细胞培养液）。可根据细胞培养液的体积调整所加试剂的体积。轻敲孔板使细胞与试剂混合，在37°C下培养1至5小时。
4. 用荧光分析仪测量每孔的荧光强度。





#### ABL1000

### 384孔板检测步骤:

1. 在黑色384孔组织培养板中培养细胞（40 μL）。每孔的细胞数量可从100至20,000之间不等。尽管本方案中使用40 μL，但培养体积可从25至60μL之间不等。除待测样品外，还应设定对照孔，对照孔中的培养基应不含细胞或细胞已经有毒试剂（如0.1%皂素）处理过。
2. 加入待测化合物和对照品，培养细胞至所需的时间。建议一式两份或一式三份进行检测。建议将10 μL体积的待测化合物加入到PBS溶液或培养基中。
3. 将反应试剂放置至室温。向每孔中加入5μL该试剂（每50 μL细胞培养液）。轻敲孔板使细胞与试剂混合，在37°C下培养1至5小时。
4. 用荧光分析仪测量每孔的荧光强度。

### 说明

**培养时间：**培养时间取决于细胞系。部分细胞系的代谢活性很强，因此其所需的培养时间比代谢活性稍弱的细胞系更短。可通过多次读数轻松确定培养时间，如加入反应试剂后每30分钟读取一次。一般来讲，培养1至5小时就已足够。当细胞数量很大时，培养时间过长（如 >18小时）可能导致非线性荧光响应。

**细胞数量：**一般来讲，优化后的 CellQuanti-Blue™ 试剂会随着培养细胞数量的增加表现出大范围的线性荧光响应。建议测定信噪比最高的各孔的细胞数量。最佳细胞数量可根据细胞连续稀释而轻松确定。

**对照品：**尽管不是必需程序，但可以设定阳性对照品，即有细胞毒性或可促进细胞增殖。皂素是一种有细胞毒性的试剂，可单独购买。每次检测都应使用空白对照品，即不含细胞或所含细胞已经0.1%皂素处理过的培养基。根据空白对照品可以确定背景荧光，数据分析时应扣除背景荧光。

### 数据分析

对于细胞增殖或细胞毒性的检测，待测化合物的活性可计算为细胞数量的变化百分比，计算方法如下：

$$\text{活性(\%)} \text{ 或 } \text{细胞活性 (\%)} = 100 \times (F_{\text{cmpd}} - F_o) / (F_{\text{ctrl}} - F_o)$$

$F_{\text{cmpd}}$  和  $F_{\text{ctrl}}$  分别是加入和未加入（基质对照）待测化合物时的平均荧光强度。 $F_o$  是空白对照品的平均荧光强度。

对于剂量反应研究，可绘制检测数据与化合物浓度的曲线。

**预防措施：**本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

