

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01548

产品介绍

动物活死细胞活性/细胞毒性检测试剂盒(Calcein AM, PI, Hoechst 33342)本试剂盒为动物细胞死活及凋亡一体化检测产品, 基于多参数荧光染色技术设计, 可解决传统方法精度不足、定量不准、操作复杂等问题。系列含三种配置, 分别采用 Calcein AM/EthD Gold、Calcein AM/EthD Gold/Hoechst 33342、Calcein AM/PI/Hoechst 33342 探针组合, 通过酯酶活性、细胞膜完整性与细胞核染色实现多维度标记。原理上, Calcein AM 标记活细胞呈绿色荧光; EthD Gold 特异性标记坏死细胞呈红色荧光, 亮度高于 PI 且无 RNA 干扰, 假阳性更低; Hoechst 33342 对所有细胞核进行蓝色染色, 可区分凋亡与活细胞并用于定量校正。

储运条件

20 °C避光保存, 冰袋运输

产品特点

1. 三色荧光无串扰: 发射波段差异显著, 无信号重叠, 规避细胞自发荧光干扰, 检测结果误判率低;
2. 染色高效稳定: 荧光抗淬灭能力强, 信号持久清晰

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
2. 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。
3. 产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
4. 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。

操作步骤

以荧光显微镜检测 (适用于悬浮细胞)

1. 收集与洗涤细胞:

- (1) 收集待测悬浮细胞悬液至离心管中。
- (2) 1000 rpm, 室温离心 5 min, 小心吸弃上清液。
- (3) 加入 100 μ L PBS 缓冲液轻柔重悬细胞, 进行洗涤。
- (4) 再次 1000 rpm, 室温离心 5 min, 彻底吸弃上清液。

2. 细胞重悬与计数:

- (1) 使用 PBS 缓冲液重悬细胞并进行计数。
- (2) 取 5×10^4 - 10^5 个细胞, 1000 rpm 低速离心 5 min, 去除 PBS 缓冲液。
- (3) 使用 100 μ L PBS 缓冲液重悬。1000 rpm 低速离心 5 min, 去除上清。

注: 具体可根据样本种类灵活调整。

3. 染色工作液制备

(1) 根据样品孔数, 取适量体积的 PBS 缓冲液, 按照每 1 mL 中三种染料分别为组分 A (Calcein AM)1 μ L、组分 B (EthD Gold)1 μ L 和组分 C (Hoechst 33342)1 μ L 的使用量将染料加入 PBS 缓冲液中, 混匀备用 (现用现配)。可参考下表制备染色工作液:

注: 样品数量按照 96 孔板检测, 每孔染色工作液使用体积为 100 μ L 进行计算。

4.细胞染色:

- (1) 取 100 μL 染色工作液重悬细胞, 轻轻吹打混匀 (例如: 96 孔板加 100 μL /孔)。
- (2) 室温避光孵育 10 min, 孵育时长可进行灵活调整, 调整区间为 10-30 min。

注: 各染料的孵育时长根据实验调整。

5.洗涤与重悬:

- (1) 孵育结束后, 1000 rpm, 室温离心 5 min, 收集细胞。
- (2) 小心吸弃含染料的上清液 (此为废液, 需妥善处理)。
- (3) 加入 100 μL PBS 缓冲液轻柔重悬细胞, 进行洗涤。
- (4) 末次洗涤后, 彻底吸净上清液, 加入 100 μL PBS 缓冲液重悬细胞, 制成待测样品。

6.显微镜观察与拍照:

将 100 μL 细胞悬液加入 96 孔板中, 静置片刻, 待细胞自然沉降贴底后, 置于荧光显微镜下观察。