

3D FloTrix® 细胞活死染色试剂盒说明书

本试剂盒仅供研究使用。

货号：R002

规格：1000T

一、试剂盒说明

本试剂盒采用两种广泛使用的荧光探针，通过检测胞质中的内酯酶活性和细胞膜的选择透过性两个方面来反映细胞活力，该方法快捷安全且灵敏度高。本试剂盒可以应用于大多数真核哺乳动物的细胞，也可直接标记 3D FloTrix® 微载体上的贴壁细胞，但不适用于细菌、酵母。本试剂盒需要搭配配有 488nm、561nm 激光器的荧光显微镜进行观察。

实验原理：

组份 A 具有强疏水性，能够穿透活细胞的完整细胞膜进入细胞内。组份 A 原本无荧光，但在胞质中可被内酯酶水解为不能穿透细胞膜的极性荧光分子，并在特定波长激发光下可使细胞质呈现绿色荧光 (Ex/Em: 495nm/520nm)。

组份 B 无法穿透活细胞的细胞膜，但可以进入无选择透过性的死细胞。组份 B 能与双链 DNA 形成稳定复合物，在特定波长激发光下可使细胞核呈现红色荧光 (Ex/Em: 530nm/620nm)。

二、试剂盒组份

组份	规格	储存条件
组份 A (4mM)	100μL	-20°C, 避光
组份 B (16mM)	100μL	-20°C, 避光

三、操作说明

1、配制染色工作液（建议现用现配）

每个样品需准备 80~100μL 细胞活死染色工作液。

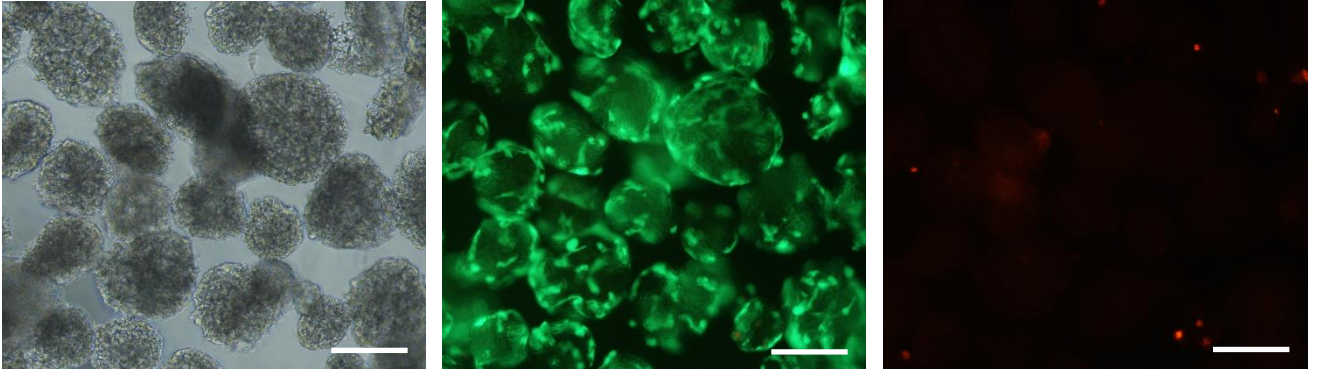
- 1.1 取出 -20°C 保存的组份 A 和组份 B，在室温下平衡 20~30min；
- 1.2 使用 PBS 配制染色工作液：组份 A 的工作浓度为 0.5~4μM，组份 B 的工作浓度为 2~16 μM。推荐将组份 A、组份 B 稀释 1000~2000 倍使用，涡旋震荡或反复吹打以确保充分混匀，得到细胞活死染色工作液。

2、微载体染色

- 2.1 取 50~100μL 细胞微载体混悬液到 96 孔板中；
- 2.2 待微载体自然沉降后，吸弃上清，使微载体刚好铺满孔底；
- 2.3 向每孔中加入 100μL 细胞活死染色工作液；
- 2.4 室温避光孵育 20~30min (37°C 下可缩短至 10~15min)；
- 2.5 吸弃染色液，加入 100μL PBS 清洗 1~2 次，并吸弃上清；
- 2.6 加入 50μL PBS，在荧光显微镜下进行观察。

3、荧光显微镜观察

- 3.1 以 4X (或 5X) 倍物镜在明场下找到微载体并对焦;
- 3.2 打开 488nm 激发光, 调整焦距, 拍摄活细胞荧光照片;
- 3.3 切换到 561nm 激发光, 拍摄死细胞荧光照片;
- 3.4 切换到明场, 拍摄微载体形貌;
- 3.5 按需切换高倍镜, 继续拍摄。



在明场、488nm 激发光、561nm 激发光下观察微载体与细胞, 图中标尺为 150 μ m。

四、注意事项

- 1、为保证染液的有效性, 请将原液避光保存于-20 $^{\circ}$ C; 可将原液按需分装, 避免反复冻融。
- 2、原液从保存环境中取出应在室温平衡 5~10min 并快速离心后再使用。
- 3、请避光配制工作液; 其中组份 A 的水溶液容易发生水解, 应现用现配 (可 4 $^{\circ}$ C 短暂保存, 在 8 小时内使用完毕, 否则活细胞染色效果不佳)。
- 4、为保证实验安全, 请佩戴一次性橡胶/乳胶手套操作。若染液接触到皮肤, 请立即使用清水冲洗。

五、储存条件及有效期

试剂盒储存: -20 $^{\circ}$ C

有效期: 12 个月

生产日期: 请查看标签

©2021-2022 北京华竟生物技术有限公司保留所有权利。
根据版权法，未经北京华竟生物技术有限公司书面同意，不得复制本手册的全部或部分内容。
北京华竟生物技术有限公司已尽一切努力确保本手册中的信息准确无误，不对印刷或文书错误负责。
3D FloTrix®是北京华竟生物技术有限公司的商标。
产品可能被专利保护，或者可能有某些限制。
所有价格和规格如有变更，恕不另行通知。
产品声明可能会发生变化。
有关更多信息，请联系客户服务部。

© 2021-2022 Beijing CytoNiche Biotechnology Co., Ltd. All Rights Reserved.
Under the copyright laws, this manual may not be copied, in whole or in part, without the written consent of Beijing CytoNiche Biotechnology Co., Ltd.
Every effort has been made to ensure that the information in this manual is accurate. Beijing CytoNiche Biotechnology Co., Ltd. is not responsible for printing or clerical errors.
3D FloTrix® is a trademark of Beijing CytoNiche Biotechnology Co., Ltd.
Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations.
All prices and specifications are subject to change without prior notice.
Product claims are subject to change.
Please contact customer services for more information.