

货号：ZC-A4134

规格：100T

## 结晶紫细胞凋亡检测试剂盒

### 产品简介：

细胞凋亡的检测方法有形态学法、生物化学法、DNA 片段化检测法、以及 TUNEL 等标记片段化 DNA 法。

结晶紫是一种碱性染料，可以和细胞核中的 DNA 结合，但药物或者毒物可以抑制细胞的增殖，使细胞数目减少，从而使颜色变浅，染色之后洗去结晶紫染液进行比色测定，可通过细胞颜色深浅间接比较细胞数的多少。

结晶紫细胞凋亡检测试剂盒可用于培养的贴壁或悬浮细胞的细胞凋亡检测或者细胞存活率的检测，该试剂盒检测细胞含量范围一般为  $0.1 \sim 1 \times 10^6$  之间。

### 产品组成：

名称 \ 编号	ZC-A4134	Storage
	100T	
试剂(A): 结晶紫溶液	5ml	RT
试剂(B): SDS 溶液	10ml	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料：

- 1、胰蛋白酶消化液
- 2、PBS、无菌水、10%甲醇溶液
- 3、细胞诱导剂、培养基
- 4、酶标仪、细胞培养板

### 操作步骤(仅供参考)：

#### 1、细胞样品的制备：

##### (1)悬浮细胞：

4°C 1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底小心吸取上清并丢弃，可留大约 50 $\mu$ l 培养液，以免吸走细胞。加入约 1ml 提前预冷的 PBS，重悬细胞，并转移至 1.5ml 无菌离心管，4°C 1000g 离心 3~5min，使细胞沉到管底。小心吸取上清并丢弃，可留大约 50 $\mu$ l PBS，以免吸走细胞，轻轻弹击离心管底以适当分散细胞，避免细胞成团。

##### (2)贴壁细胞：

小心收集细胞培养液到一个无菌离心管内，用胰蛋白酶消化细胞至可以被轻轻用移液管或枪头吹打下来时，加入前面收集的细胞培养液，吹打下所有的贴壁细胞，并轻轻吹散细胞。收集上述细胞悬液到离心管内，以下步骤同悬浮细胞的制备方法。

- 2、细胞处理：将细胞悬液的细胞密度调整为  $3 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ /ml。在细胞培养板的各孔中加入细胞悬液 50 $\mu$ l(a)，并设置只有细胞培养液的对照孔(b)。二氧化碳培养箱过夜培养，加入含有 2 倍浓度细胞诱导剂的培养基 50 $\mu$ l，并设置无细胞凋亡诱导剂的对照孔(c)。二氧化碳培养箱继续培养 16~20h。

操作方法亦可如下：取药物处理待测组细胞和未处理对照组细胞，分别过夜培养，使细胞贴壁，吸除培养液，用 PBS 清洗，下同。

- 3、固定：去除培养液，用 PBS 清洗一次，然后各孔加入 50ul 甲醇溶液固定 30~90s。
- 3、结晶紫染色：去除固定液，加入 50ul 结晶紫溶液，室温放置 10~20min。将培养板倒置，吸水纸吸除结晶紫溶液。无菌水小心洗 2 遍，倒置，并用吸水纸吸干水分，干燥培养板。再分别加入 100ul SDS 溶液。
- 4、检测：用酶标仪测定 A590nm 处的吸光度值。

**结果**：细胞存活率 (%) =  $(A_a - A_b) / (A_c - A_b) \times 100\%$

或细胞存活率 (%) =  $A_{\text{待测组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$

细胞存活率越高，说明药物的细胞毒性越小。

**注意事项：**

- 1、结晶紫对人体有一定刺激性，请注意适当防护。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期**：12 个月有效。