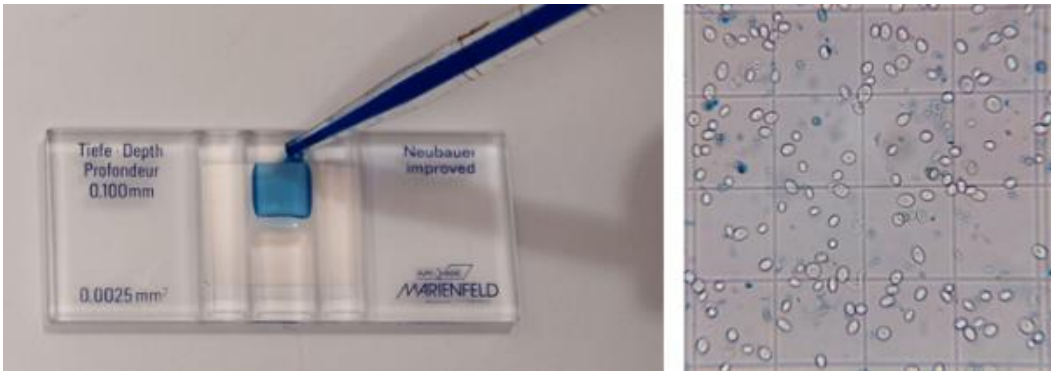


细胞增殖和细胞活性检测方法指南

1. 传统细胞计数

为了在光镜下区分死细胞和活细胞，我们还能结合台盼蓝（Trypan blue）染料进行计数。台盼蓝无法自由穿透活细胞的细胞膜，而由于死细胞的细胞膜受损，就会被染成蓝色。



检测方法	货号	产品名称 (点击名称可以查看详情)	规格	价格 (¥)
细胞计数	zq-0650010	细胞计数板，黑线	1 个	880
	zj-0650030	细胞计数板，亮线	1 个	480
	AB-CS001	台盼蓝染色液	100ml	120

2. 基于群体生物量的变化

如果实验是在微孔板中进行的话，直接进行细胞计数就不是那么方便了。其中一个解决方案是测量细胞群体生物量的变化。这一类方法的主要思想是，假定每一个细胞的某种有机物含量是相近的，那么当细胞数量变多或者变少了，该有机物的总量也会发生相应的改变。

检测方法	货号	产品名称 (点击名称可以查看详情)	激发/发射波长 (nm)	规格	价格 (¥)
基于细胞 DNA 含量的方法	A014	Cell-Quant™ No Wash Cell Proliferation Assay Kit	490/520	1000 次	1600

3. 基于 DNA/RNA 的新合成变化

直接测定 DNA 合成是细胞增殖检测的最准确方法之一，Applied BioProbes 最新开发的 EdU 细胞增殖检测试剂盒采用另外一种胸腺嘧啶核苷酸类似物-EdU（5-乙炔基-2' 脱氧尿嘧啶核苷），在细胞增殖时 EdU 能够插入正在复制的 DNA 分子中，利用 EdU 与染料之间的点击化学(Click Chemistry)反应可以进行高效快速的细胞增殖检测分析，可以有效地检测处于 S 期的细胞百分数。与传统的免疫荧光染色（BrdU）检测方法相比(图 1)，更简单，更快速，更准确。EdU 只有 BrdU 抗体大小的 1/500，在细胞内更容易扩散，不需要严格的样品变性（酸解、热解、酶解）处理，有效地避免了样品损伤，有助于在组织、器官的整体水平上观测细胞增殖的真实情况，具有更高的灵敏度和更快的检测速度。EdU 分析方法反应条件比较温和，我们提供的一系列 Andy Fluor™ 染料标记可以用于多色通道选择，也可以用于培养细胞分析及组织切片分析（图 2）。

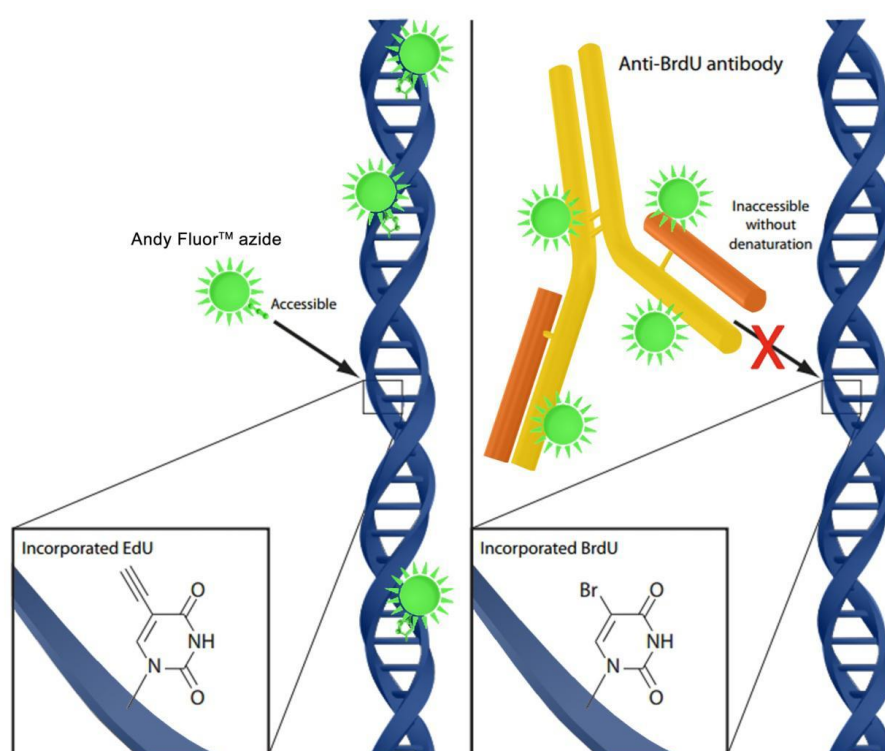


图 1. EdU 细胞增殖检测和 BrdU 细胞增殖检测的对比。小分子化合物 Andy Fluor™ azide 与 EdU 之间的点击化学(Click Chemistry)反应不需要 DNA 变性，就可以进行高效快速的细胞增殖检测分析，该反应不受双链 DNA 中碱基对的影响，因此客户了 BrdU 掺入法的弊端。

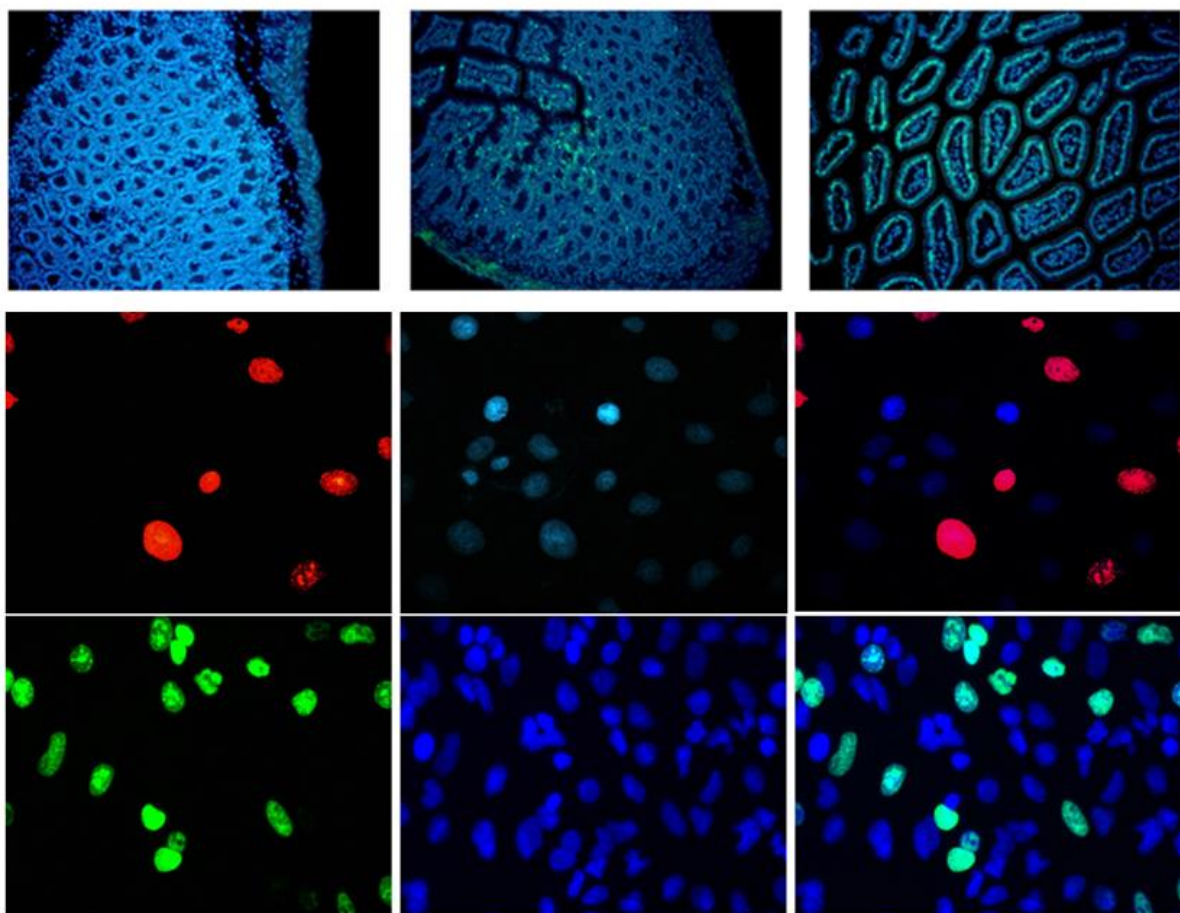


图 2. 使用 EdU 细胞增殖检测试剂盒对细胞和活体组织的染色效果。使用 10 μ M EdU 处理 A549 细胞 2 小时，然后分别使用 Andy Fluor™ 488 azide（绿色，最上图）、Andy Fluor™ 594 azide（红色，中间图）检测细胞增殖活性，使用 DAPI 进行复染（蓝色）。腹腔注射 EdU 到小鼠体内（每公斤小鼠注射 5mg EdU），分别于 0、12、24 小时之后取小鼠肠组织，制成切片用 Andy Fluor™ 488 azide（绿色，最下图）检测细胞的增殖情况，使用 DAPI 进行复染（蓝色）。

EdU 细胞增殖检测试剂盒选购指南

货号	产品名称（ 点击名称可以查看详情 ）	应用	激发/发射波长（nm）	规格
A003	iClick™ EdU Andy Fluor™ 488 Imaging Kit	成像	495/520	250 assays
A004	iClick™ EdU Andy Fluor™ 555 Imaging Kit	成像	555/565	250 assays
A005	iClick™ EdU Andy Fluor™ 594 Imaging Kit	成像	590/615	250 assays
A006	iClick™ EdU Andy Fluor™ 647 Imaging Kit	成像	650/665	250 assays
A007	iClick™ EdU Andy Fluor™ 488 Flow Cytometry Assay Kit	流式	495/520	250 assays

A008	iClick™ EdU Andy Fluor™ 647 Flow Cytometry Assay Kit	流式	650/665	250 assays
A011	BrdU			50 mg
A012	EdU			50 mg
A013	EU			50 mg

EU 细胞增殖检测试剂盒是 GeneCopoeia 最新开发的利用一种尿嘧啶核苷类似物-EU（5-乙炔基-尿嘧啶核苷），能够在 RNA 转录时期代替尿嘧啶（U）渗入正在合成的 RNA 分子，利用 EU 与染料之间的点击化学(Click Chemistry)反应可以在体内和体外水平检测时间和空间上 RNA 合成的变化，能够更方便地研究 RNA 转录位点，结合相关抗体标记能够检测与 RNA 有相互作用的蛋白。结合 EdU 和 EU 进行检测新合成的 DNA 和新合成的 RNA，可以深入开展细胞增殖、细胞周期、细胞毒性、DNA 复制及修复、信号通路等方面的研究（图 1）。

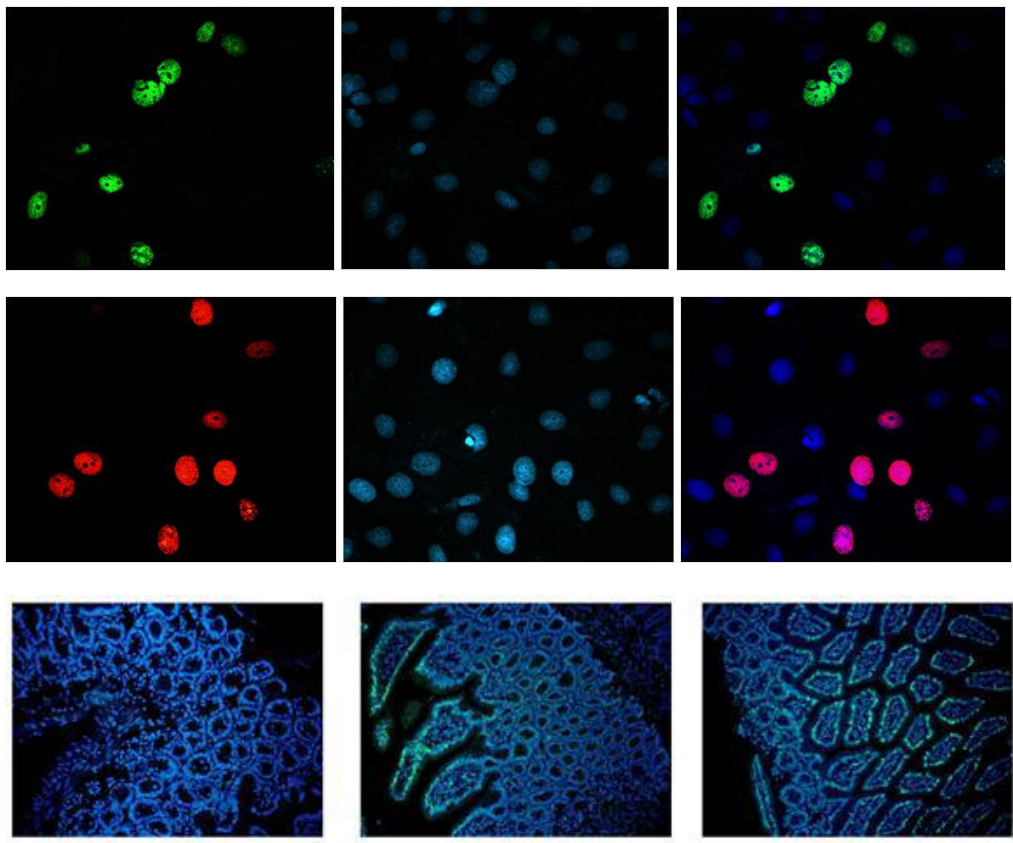


图 1. 使用 EU 细胞增殖检测试剂盒对细胞和活体组织的染色效果。使用 100 μ M EU 处理 A549 细胞 2 小时，然后分别使用 Andy Fluor™ 488 azide（绿色，最上图）、Andy Fluor™ 594 azide（红色，中间图）检测细胞增殖活性，使用 DAPI 进行复染（蓝色）。腹腔注射 EU 到小鼠体内（每公斤小鼠注射 50mg EU），分别于 0、12、24 小时之后取小鼠肠组织，制成切片用 Andy Fluor™ 488 azide(绿色，最下图)检测细胞的增殖情况，使用 DAPI 进行复染（蓝色）。

EU 细胞增殖检测试剂盒选购指南

货号	产品名称	应用	激发/发射波长 (nm)	规格	价格 (¥)
A009	iClick™ EU Andy Fluor™ 488 Imaging Kit	Imaging	495/520	250 assays	2600
A010	iClick™ EU Andy Fluor™ 594 Imaging Kit	Imaging	590/615	250 assays	2600

4. 基于外源标记物的减少

通过荧光染料标记法可以追踪细胞分裂的情况，进而检测和定量分析细胞增殖的情况（图 1）。Applied BioProbes 最新开发的 Cell-ID™ Cell Proliferation Kits 是用于检测细胞增殖和细胞示踪的试剂盒。该试剂盒的探针可以穿透细胞膜并与细胞内的蛋白质共价结合，而不会影响细胞的形态学、生理学上的改变。这些示踪染料的荧光信号都很强，当细胞分裂时，母细胞内的染料会被平均分配到子细胞中，细胞的荧光信号就会减弱一半。通过这种荧光信号强弱的变化，可以利用流式细胞仪检测到细胞分裂 6-10 代的子代细胞（图 2）。我们提供的 Cell-ID™ CFSE Cell Proliferation Kit 采用 488 nm 激发光源，Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit 采用 405 nm 激发光源。

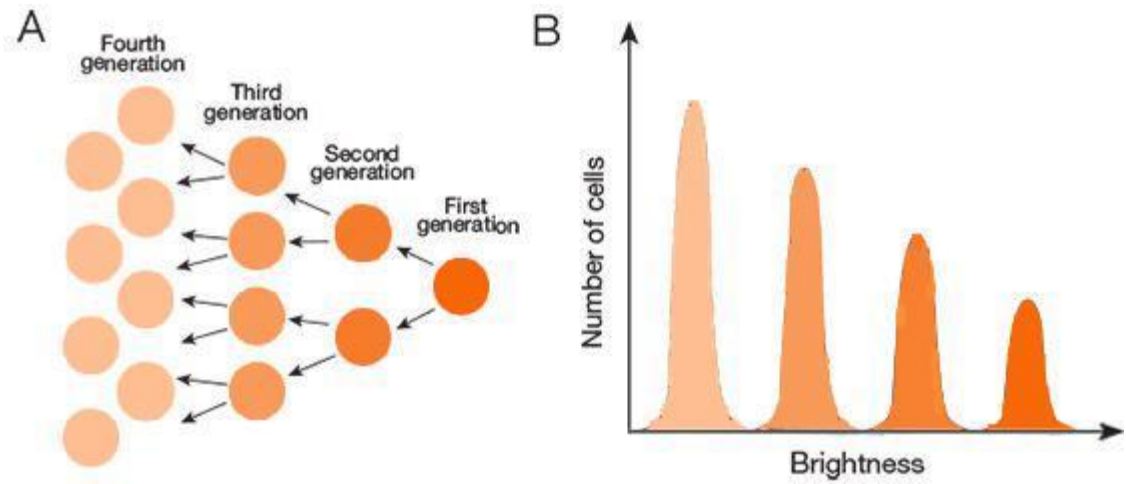


图 1. 细胞分裂时细胞分布和荧光强度变化演示图。（A）通过荧光强度变化分析细胞增殖情况；（B）流式细胞术分析细胞分裂情况，随着细胞代数增加、细胞荧光强度不断减弱。

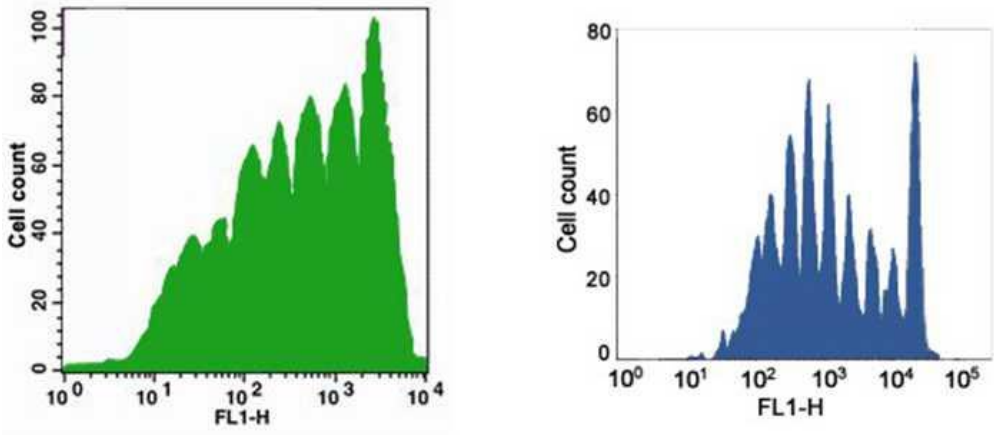


图 2. 流式细胞仪分析细胞分裂结果图。使用 1uM 的 CFSE 或 Violet 荧光染料孵育 Jurkat 细胞 (~1×10⁶ cells/ml)，细胞培养 7 天之后用 FACS 流式细胞仪分析荧光强度。左侧是用 Cell-ID™ CFSE Cell Proliferation Kit 测试结果；右侧是用 Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit 测试结果。

表 1. 细胞传代示踪试剂盒选购指南

货号	产品名称	激发光源	激发/发射波长 (nm)	规格
A001	Cell-ID™ CFSE Cell Proliferation Kit	Blue	490/517	1000 assays
A002	Cell-ID™ Violet Cell Proliferation Kit	Violet	405/450	200 assays

5. 基于细胞新陈代谢的检测

MTT (3- (4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide)，全称为 3- (4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐，是一种基于细胞新陈代谢活性来检测细胞增殖的染料分子。检测原理为 MTT 可以被活细胞线粒体内的一些脱氢酶还原生成结晶状的深紫色产物 formazan，在特定溶剂存在的情况下，可以被完全溶解。然后通过酶标仪可以测定 570nm 波长附近的吸光度。

我们提供的 Cell-Quant™ MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒采用了独特的 formazan 溶解液配方，无需去除原有的培养液，可以直接加入 formazan 溶解液溶解 formazan。从而避免了由于去除培养液时 formazan 被部分去除而引起的误差。

我们提供的 Cell-Quant™ AlamarBlue 检测试剂为细胞增殖和细胞毒性检测提供了一种简便、快速、可靠、安全的方法，适用于高通量检测实验。此试剂的主要成分是一种氧化还原指示剂其在氧化状态下呈现紫蓝色无荧光性，而在还原状态下，转变为呈粉红或红色荧光的还原产物，其吸收峰为 530—560nm，而散射峰为 590nm。在细胞增殖过程中，细胞内 NADPH/NADP、FADH/FAD、FMNH/FMN 和 NADH/NAD 的比值升高，处于还原环境。摄入细胞内的染料被这些代谢中间体及细胞色素类还原后释放到细胞外并溶于培养基中，使培养基从无荧光的靛青蓝变成有荧光的粉红色。最后用分光光度计或荧光光度计进行检测，吸光度和荧光强度与活性细胞数成正比。

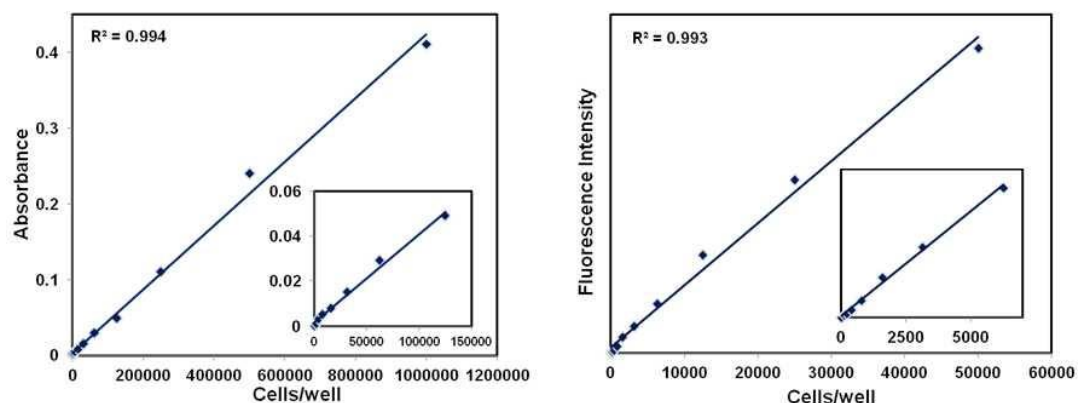


Figure 1. Jurkat cells were diluted to the indicated cell numbers in 100 μ L volumes, delivered to the wells of a microplate, and incubated for 4 hr with Cell-Quant™ MTT Cell Proliferation Assay Kit, absorbance was measured at 570 nm (Left). In parallel experiment, the cells were incubated with AlamarBlue reagent for 4 hr, fluorescence was measured at Ex/Em=545/590 nm (right).

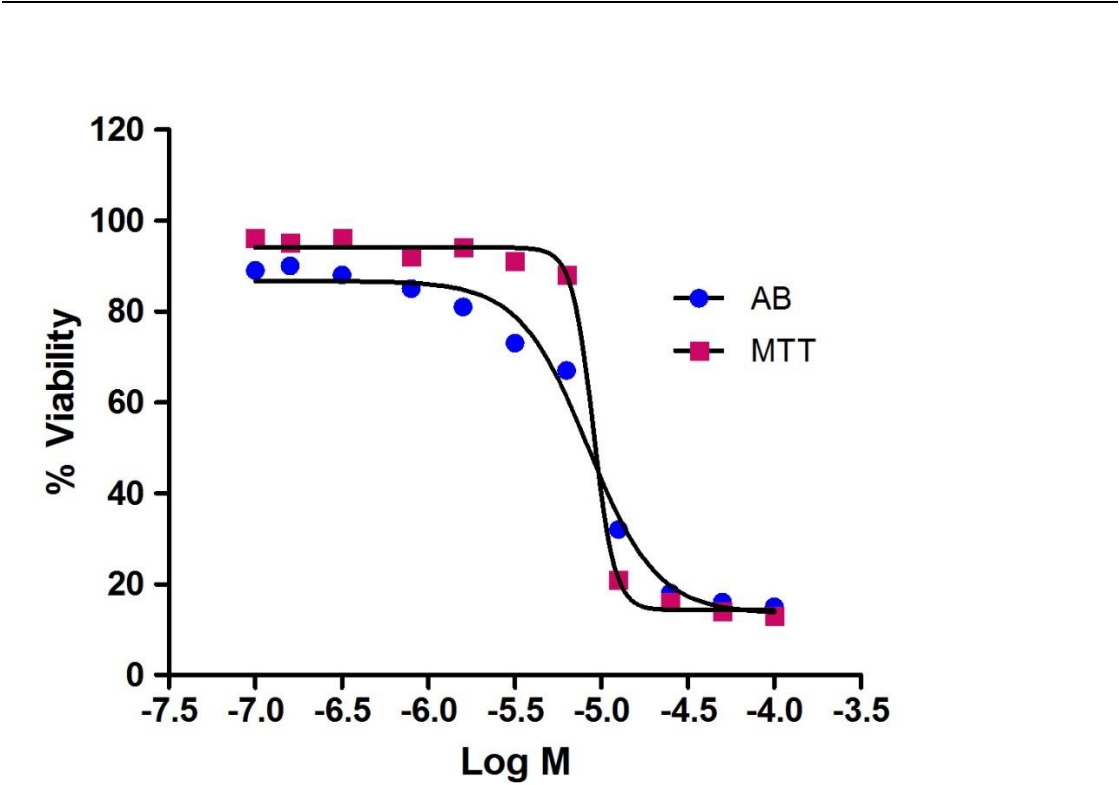


Figure 2. Dose response curve of ellipticine in HepG2 cell line using the AlamarBlue and MTT assays

货号	产品名称	激发/发射波长 (nm)	规格	价格 (¥)
A015	Cell-Quant™ MTT Cell Proliferation Assay Kit	570/-	1000 assays	1200
A016	Cell-Quant™ AlamarBlue Cell Viability Reagent	530-560/590	2500 assays	1500

本文参考资料：<https://zhuanlan.zhihu.com/p/22626179>

