

中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C0013	中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500次

产品简介:

- 碧云天生产的中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(Neutral Red Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit)是一种基于细胞对于中性红的摄入能力来检测细胞增殖或细胞毒性的试剂盒。
- 细胞对中性红的摄入取决于细胞对pH梯度的维持能力，而这种能力是通过产生ATP来维持的。在生理pH条件下，中性红染料的净电荷几乎为零，从而使其能通过非离子被动扩散的方式穿透细胞膜进入细胞。溶酶体(lysosomes)中的质子梯度使溶酶体中的pH值低于细胞质，从而可以使中性红带上电荷并在溶酶体中积累。在细胞增殖加快时，细胞数量增多，可以摄入的中性红的量就会增加。在细胞受到损伤时，中性红的摄入能力会下降。经过一定时间摄入后，细胞经清洗并用裂解液裂解即可释放中性红而用于检测。这样通过测定细胞对于中性红的摄入量，就可以确定细胞的增殖或毒性情况。
- 中性红同时也是一种pH指示剂，在酸性时呈红色，在pH6.8升至pH8.0时由红色逐渐转变为黄色。对于活细胞，中性红积累在溶酶体中，而溶酶体中是酸性环境，因此溶酶体被中性红染成红色。本产品中的中性红染色液对正常培养的L929细胞的染色效果参考图1。

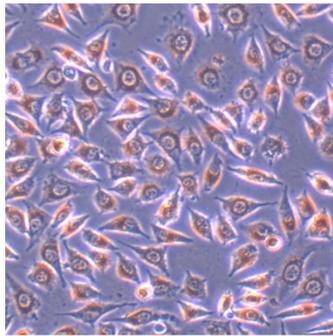


图1. 正常培养的L929细胞加入中性红染色液后的染色效果。

- 中性红的分子式为 $C_{15}H_{17}ClN_4$ ，分子量为288.8，CAS Number为553-24-2。
- 本试剂盒可以用于检测500个样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0013-1	中性红染色液	10ml
C0013-2	中性红检测裂解液	100ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存，一年有效。中性红染色液需避光保存。

注意事项:

- 需准备一台可以测定A540的酶标仪或微量分光光度计。
- 第一次使用本试剂盒时建议先取少量样品做好预实验。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 把细胞培养在96孔培养板内，每孔加入200微升细胞培养液，设置适当的阴性对照和阳性对照，并给予药物刺激。
2. 至待检测时间点，如果培养液中的药物推测不会对后续检测产生干扰，直接加入20微升中性红染色液；如果培养液中的药物可能会对后续检测产生干扰，先用PBS、DPBS或HBSS等适当溶液洗涤1-2次，随后加入200微升细胞培养液，并加入20微升中性红染色液。
3. 细胞培养箱内孵育2小时。注：对于细胞密度非常低，细胞代谢速率非常慢的情况，可以把孵育时间延长到3-4个小时。

4. 去除含有中性红染色液的细胞培养液，用PBS、DPBS或HBSS等适当溶液洗涤1-2次。
5. 加入200微升中性红检测裂解液，室温摇床上裂解10分钟。在摇床上摇动可以促进样品的裂解。
6. 测定样品的A540，可以选择690nm作为参考波长。本产品对L929细胞的检测效果参考图2。

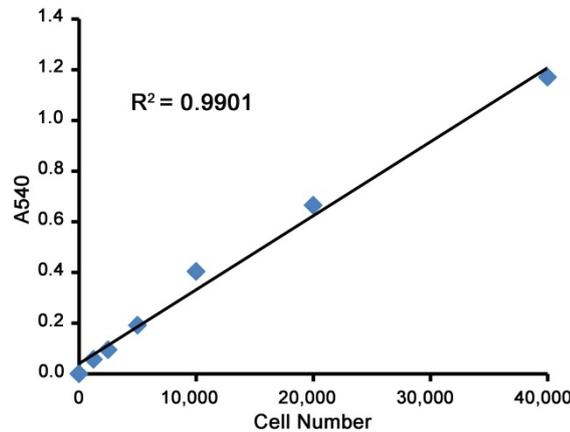


图2. 本产品对L929细胞进行检测的效果图。实测数据会因细胞种类、细胞状态、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

常见问题：

1. 中性红染色液长期存放会产生沉淀。可以直接吸取染色液的上清液使用，也可以使用针头过滤器等过滤去除沉淀后继续使用，不会影响使用效果。因为染色液中的中性红本来就是过量的。
2. 96孔板在细胞培养过程中会存在蒸发问题。在加入中性红染色液前，如果培养液存在明显的蒸发问题，会影响细胞的生长状态，并严重影响后续的检测结果。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0013	中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500次
C0123	中性红染色液	100ml
C0125	中性红染色液(活细胞染色用)	100ml

使用本产品的文献：

1. Yu J, Xie J, Mao XJ, Wang MJ, Li N, Wang J, Zhaori GT, Zhao RH. Hepatotoxicity of major constituents and extractions of Radix Polygoni Multiflori and Radix Polygoni Multiflori Praeparata. J Ethnopharmacol. 2011 Oct 11;137(3):1291-9.
2. Ying C, Hong W, Nianhui Z, Chunlei W, Kehe H, Cuiling P. Nontoxic concentrations of OTA aggravate DON-induced intestinal barrier dysfunction in IPEC-J2 cells via activation of NF- κ B signaling pathway. Toxicol Lett. 2019 Sep 1;311:114-124

Version 2021.09.01