



## Cell-Quant™ AlamarBlue Cell Viability Reagent

### ——细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒

产品货号	包装规格
A016-1	5 mL
A016-2	25 mL

储存条件：4℃，避光保存。

## 产品说明书

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

ABP Biosciences Inc

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋5楼

电话：400-0667-718

邮箱：[sales@abpbio.cn](mailto:sales@abpbio.cn)

网址：[www.abpbio.com](http://www.abpbio.com) (英文)

[www.abpbio.com.cn](http://www.abpbio.com.cn) (中文)

© 2020 ABP Biosciences, Inc.

# Cell-Quant™ AlamarBlue Cell Viability Reagent

产品货号: A016-1, A016-2

产品货号	包装	储存条件	有效期
A016-1	5 mL	4 °C	1年
A016-2	25 mL	4 °C	1年

## 产品介绍

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—560 nm, 而散射峰为 590 nm。

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。最后用普通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。

与 MTT、XTT、WST、CCK 等分析法相比,AlamarBlue 具有更多的优势。AlamarBlue 采用单一试剂,可以连续、快速地检测细胞的增殖状况。由于 AlamarBlue 对细胞无毒、无害,不影响细胞代谢、细胞因子分泌、抗体合成等,可以对同一批细胞的增生状态进行连续观察和进一步的实验观察。其适用于细菌、酵母类、昆虫类、鱼类、哺乳类等多种细胞,以及贴壁细胞与非贴壁细胞的检测,可以广泛用于细胞增殖、细胞毒性以及病原微生物的快速检测与鉴定。

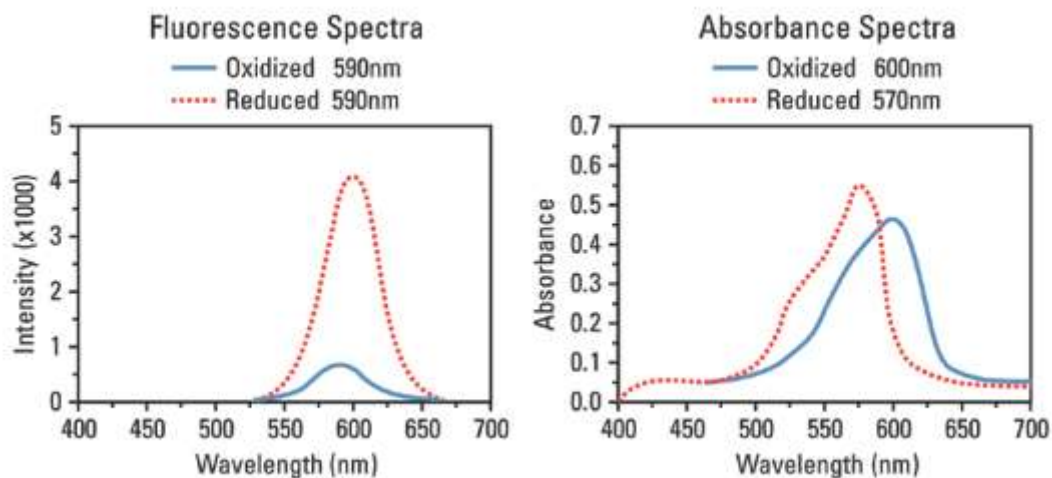
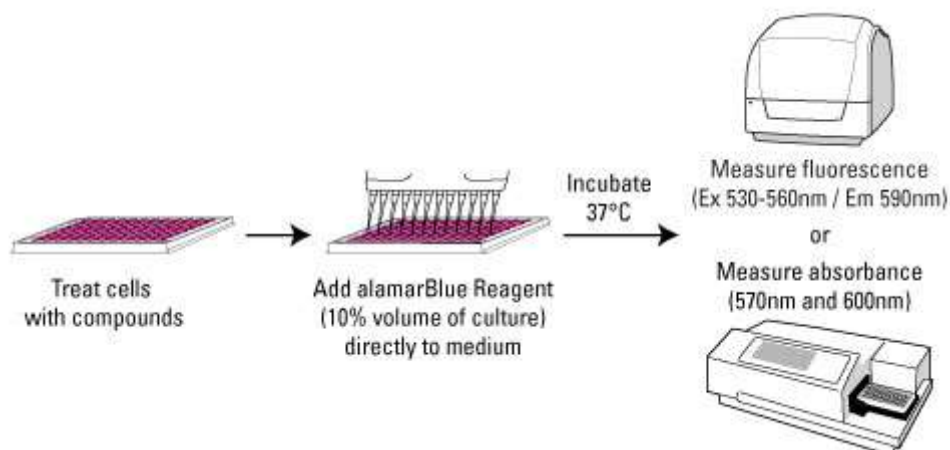


图1: AlamarBlue试剂分别处于氧化、还原状态下的荧光光谱图(左)和吸光光谱图(右)。

## 实验流程图



## 实验准备

细胞；

组织培养皿（96孔板、384孔板，可以匹配荧光值或吸光光度值读数）；

多道移液器；

荧光酶标仪（激发波长：530~560 nm；发射波长：590 nm）；

分光光度计（可以读取570/600 nm的吸光光度值）；

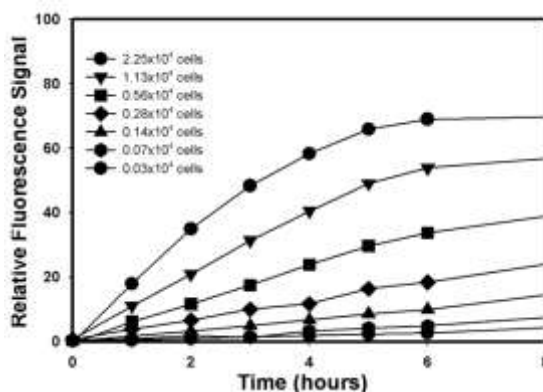
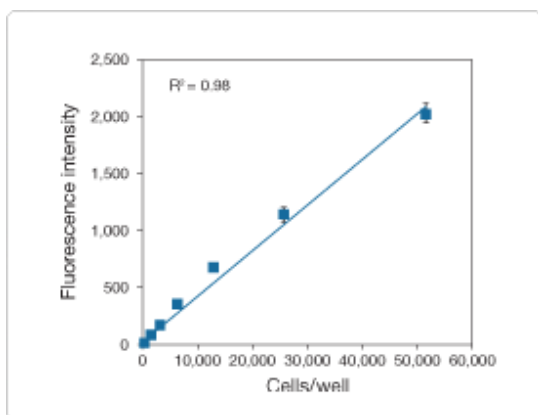
阳性对照：100%还原状态的AlamarBlue试剂

制备还原状态的AlamarBlue试剂：按照一定的比例（1倍体积的AlamarBlue试剂：10倍体积的哺乳细胞培养液）配制成混合液，高压灭菌15分钟。

## 实验步骤

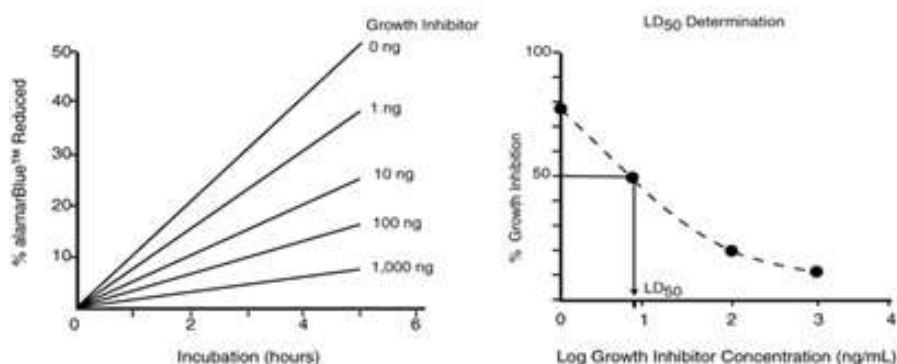
### 细胞标准曲线测定

1. 往 96 孔板里每孔接种 100  $\mu$ L 不同含量的细胞，细胞浓度范围为：贴壁细胞在 50~10,000/孔，悬浮细胞在 2,000~500,000/孔，并以培养基为空白对照。
2. 往 96 孔板里每孔加入 10  $\mu$ L AlamarBlue 检测试剂，并在细胞培养箱内孵育 1~24 小时。
3. 用分光光度计读取 570 nm 和 600 nm 的吸光度，或者使用荧光酶标仪进行检测，激发光波长为 530 nm，发射光波长为 590 nm。
4. 绘制细胞标准曲线：纵坐标（Y 轴）为吸光度(OD570-OD600)，或者相对荧光值；横坐标（X 轴）为细胞数或时间点。



## 细胞增殖和细胞毒性检测

1. 往96孔板里每孔接种100  $\mu\text{L}$ 适当浓度的细胞（根据细胞标准曲线测定）。
2. 往细胞里加待检测的化合物，并在细胞培养箱内孵育一段时间。
3. 往96孔板里每孔加入10  $\mu\text{L}$  AlamarBlue 检测试剂，并在细胞培养箱内孵育1~24小时。
4. 用分光光度计读取570 nm和600 nm的吸光度，或者使用荧光酶标仪进行检测，激发光波长为530 nm，发射光波长为590 nm。
5. 绘制细胞生长曲线：纵坐标（Y轴）为吸光度(OD570-OD600)，或者相对荧光值；横坐标（X轴）为药物浓度或时间点。



## 注意事项

1. 整个过程均应为无菌操作，因为微生物污染物同样可以还原检测试剂而影响实验结果。
2. 孵育时，须避光。
3. 注意接种细胞浓度和加入检测试剂后孵育时间。细胞浓度过高或孵育时间过长，会导致继发性还原反应，产生无色和荧光消失。
4. 本产品可以使用荧光或分光光度检测，但荧光的灵敏度高，实验误差小，推荐使用荧光检测。

## 查错指南

问题	原因分析	解决办法
荧光读值低	仪器设置的荧光读值偏低	调整仪器设置的荧光读值
	仪器的滤光片或激发波长设置错误	调整仪器的滤光片或激发波长设置
	加入检测试剂后孵育时间太短	适当延长孵育时间
	细胞浓度太低	提高细胞浓度
荧光读值高	仪器设置的荧光读值偏高	调整仪器设置的荧光读值
	仪器的滤光片设置错误	调整仪器的滤光片设置
	加入检测试剂后孵育时间太长	适当缩短孵育时间
	细胞浓度太高	降低细胞浓度
	细菌污染	确定并移除细胞污染源