

CellTiter-Live™ Resazurin Cell Viability Assay Kit

支持荧光比色双通道，高灵敏低毒，可动态监测、多指标联检，适配微量样本

产品货号：C20302

产品规格：100 T, 500 T, 2500 T, 10000 T

储运条件：-20℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

CellTiter-Live™ Resazurin Cell Viability Assay Kit，又称Alamar Blue试剂盒，是基于刃天青显色体系开发，可同步完成细胞增殖定量、体外化合物细胞毒性评价的一体化检测试剂盒，核心有效组分为高纯度刃天青氧化还原指示剂，适配贴壁、悬浮绝大多数细胞类型。试剂盒核心检测原理依托活细胞线粒体脱氢酶氧化还原反应：氧化态刃天青呈深蓝色、无内源荧光，可自由穿透细胞膜进入胞内；具备完整代谢活性的活细胞通过线粒体呼吸链将刃天青还原为粉红色高荧光产物试卤灵Resorufin，荧光强度与573 nm吸光度数值均与活细胞数量呈线性正相关，丧失代谢能力的死细胞无法发生还原反应，无荧光与显色信号生成；其中高纯度刃天青作为代谢响应探针，稳定染料氧化还原状态、降低培养基背景干扰，无需额外电子载体、裂解液与助溶剂。本品与市面主流CCK-8试剂盒同属细胞增殖、毒性检测大类试剂，检测目标一致、实验中可互为替代，但二者化学体系、检测模式存在本质区别：CCK-8以WST-8四唑盐为核心底物，经细胞还原生成橙黄色水溶性甲臞，仅支持450 nm单通道吸光度比色；而本试剂盒采用氧化还原染料体系，实现荧光、比色双通道检测，适配荧光酶标仪读数定量。相较于CCK-8、MTT等传统四唑盐检测体系，本品具备多重核心优势：一是检测灵敏度大幅提升，荧光模式最低稳定检出50~100个细胞/孔，适配微量细胞样本；二是试剂细胞毒性极低，支持1~24 h长时间孵育，满足细胞动态实时监测需求；三是均质一步法操作，无需洗板、裂解、有机溶剂溶解，兼容96/384孔高通量筛选。广泛适配多类实验场景：药物小分子/天然产物高通量细胞毒性筛选、细胞增殖曲线动态监测、干细胞与肿瘤细胞基础生物学研究、凋亡复合评估、原代细胞及微生物活性定量检测。

基于刃天青氧化还原显色体系的Alamar Blue检测技术拥有数十年成熟科研应用背景，CellTiter-Live™试剂盒是该体系标准化商用产品，也是国际公认的体外细胞代谢活性定量标准方案，弥补了CCK-8等传统四唑盐检测仅能终点数值定量、微量细胞检出差、难以长时间动态追踪细胞状态的技术短板，解决药物研发、细胞基础研究中数据精度不足、实验流程繁琐、样本消耗量大等痛点。在细分研究场景中，本品适配贴壁、悬浮全部主流细胞，依托荧光酶标仪检测系统可精准量化化疗药物、候选小分子、环境毒物对肿瘤细胞/正常原代细胞的杀伤效果，稳定输出IC₅₀、细胞增殖抑制率等关键药效数据；在干细胞、组织工程研究中，实现细胞活性长期无损伤追踪，支撑支架材料、诱导分化体系有效性评价；在细胞凋亡、氧化应激复合模型中，可同步完成细胞活力与凋亡通路标记联检，完整还原药物作用通路机制；同时适配微生物、真菌活性快速筛查，拓展体外毒理、抗感染药物评价维度。该试剂盒为细胞生物学、肿瘤药理、再生医学、药物筛选等领域提供稳定、低干扰、高重复性的定量检测工具，能够高效产出精准、可重复的细胞代谢活性数据，为候选药物药效评估、细胞生理机制解析、体外疾病模型构建提供可靠实验依据，加速基础科研成果转化与临床前药物安全性评价进程，推动肿瘤、退行性疾病、抗感染等方向体外研究标准化发展。

注：效能等同于Promega CellTiter-Blue® Cell Viability Assay (G8080)。效能等同于Biotium Resazurin Cell Viability Assay Kit (alamarBlue™)(30025)。效能等同于赛默飞 alamarBlue™细胞活力检测试剂(DAL1025)。

注：本文中 CellTiter-Blue®为 Promega 的商标及注册商标。alamarBlue™为 Trek Biosystems 的商标及注册商标。

应用范围：贴壁/悬浮细胞生长曲线、干细胞增殖分化监测、抗肿瘤、抗菌、天然产物 IC₅₀ 测定，生物材料安全性评价、氧化应激、辐射损伤，可与凋亡探针同孔联检、基因编辑、原代细胞培养条件优化

产品特点：

- **双检测模式：**氧化态刃天青经活细胞还原生成荧光产物试卤灵，支持荧光、吸光度双通道检测，可酶标仪定量；
- **超高检测灵敏度：**荧光检测下限低至50个细胞/孔，适合微量细胞样本检测；
- **低细胞毒性：**对细胞损伤极小，可长达24 h长时间孵育，检测完毕的细胞还可继续用于进行其他实验，例如收集细胞



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probilives Technology CO., LTD.

进行 Western Blot、qPCR、酶活性检测等；

- **操作简便高效：**一步均质反应，无需洗板、裂解、有机溶剂溶解，兼容 96/384 孔高通量筛选；
- **综合性能优：**与 MTT 相比，无需有机溶剂溶解，避免结晶干扰；与 CCK-8 相比，线性范围更宽；与 LDH 法相比，可直接反映活细胞代谢活性，灵敏度更高。

产品参数：

- Ex/Em: 560/590 nm

产品组分：

组分	100 T	500 T	2500 T	10000 T
A. CellTiter-Live™ Resazurin Solution	1 mL	5 mL	5×5 mL	10×10 mL

注：对于 96 孔板，按照每孔 100 μ L 细胞需要 10 μ L 检测试剂，本试剂盒每 1 mL 可以进行 100 次检测。

注意事项：

- 本试剂盒长时间暴露于光照条件下会导致检测时背景荧光值偏高，应注意避光。
- 在首次使用时，可将产品进行分装，避免反复冻融
- 不同细胞类型将刃天青还原为试卤灵的能力取决于细胞系的代谢能力和与刃天青共同孵育的时间长度。
- 对于大多数细胞，通常孵育 1~4 h 内即可得到理想的检测效果；延长孵育时间，较低数量的细胞的信号强度能得到显著改善，从而使检测灵敏度提高，但是较高数量的细胞的信号会逐渐达到平台期不再呈现线性关系。例如 96 孔板中，对于 5 万个细胞/孔的 HeLa 细胞孵育 1 h 即可得到理想的检测效果；
- 检测时需使用适合于细胞培养的黑色 96 孔板或 384 孔板，避免相邻孔之间产生干扰。
- 本试剂盒也可以在 570 nm 进行吸光度检测（设置 600 nm 为参比波长），但更建议荧光法检测，灵敏度更高。
- 对于大部分细胞，在细胞数量达到 5 万或者 10 万个后可能会不呈现线性关系，但荧光读数通常还是会继续升高；对于少部分细胞，也可能会随着细胞数量的继续升高，荧光读数会略有降低。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂解冻并平衡到室温。可以使用 37 $^{\circ}$ C 的水浴来解冻试剂。保护试剂免受直射光线的影响。
- 准备细胞培养基。

2. 仪器准备：

- 有荧光检测功能的多功能酶标仪：560/590 nm。

3. 对照设置

- 无细胞对照：设置三重复孔而不加细胞，作为阴性对照以测定可能存在的背景荧光。
- 未处理细胞对照：设置三重复孔并加入未处理的细胞作为溶剂对照。向溶剂对照孔中加入与递送测试化合物相同的溶剂。
- 可选测试化合物对照：设置不含细胞但含有溶剂和测试化合物的三重复孔，以检测可能干扰化学反应的情况。
- 细胞毒性阳性对照：设置三重复孔并加入已知对所用模型系统细胞有毒性的化合物处理过的细胞。

二、操作步骤

1. 细胞培养：

- (1) 悬浮细胞：选用黑色 96 孔板，每孔加入 100 μ L 细胞悬液，需控制单细胞密度在 3 万个/孔以内；以不含细胞的培养液孔作为阴性对照，完成细胞培养；药物处理和细胞浓度梯度可根据实验方案执行。
- (2) 贴壁细胞：提前将贴壁细胞消化后进行 96 孔板铺板，待细胞贴壁后并按照实验设计进行药物处理。
 - a. 加入适量胰酶消化液消化细胞。



注：胰酶使用量、消化时间、消化温度根据各自实验室的经验操作。

- b.将细胞悬液转移至合适的离心管，1000 rpm，室温离心 5 min，吸弃上清。
- c.取适当数量的细胞铺设到黑色 96 孔板中，细胞贴壁后检测汇合度不超过 80%~85%为宜。
- d.待细胞贴壁后并按照实验设计进行药物处理。

注：最佳细胞密度需根据细胞类型决定。初次实验时可以设置细胞浓度梯度，然后选取荧光强度范围比较适宜的密度用于后续实验。如使用 384 孔板，每孔接种 25 μL 细胞，具体用量视不同类型的 384 孔板而定，每孔细胞数量宜控制在 8000 个以内，建议使用多通道移液器或者自动化细胞培养系统进行接种。

注：对照设置可参照以上文中实验前准备 3 说明。

2. 细胞活力检测：

- (1) 解冻后的组分 A (CellTiter-Live™ Resazurin Solution)平衡至室温，根据使用量取用。
- (2) 将细胞检测试剂混匀后，按照培养液量的 10%即 96 孔板每孔 10 μL 或 384 孔板每孔 2.5 μL 加入孔板中，适当摇晃混匀。

样品数量	组分 A	细胞体积
96-well plate	10 μL	100 μL
384-well plate	2.5 μL	25 μL

注：如果 96 孔板起始的培养体积为 200 μL ，则需加入 20 μL ，其它情况以此类推。为了达到最佳的检测效果，Resazurin 细胞检测试剂的使用量和细胞培养液体积之间的比例也可以根据细胞类型、孵育时间和所需的线性范围进行适当调整。

- (3) 在标准细胞培养条件下(37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)孵育 1~4 h。孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整，调整区间为 1~24 h。

注：对于大多数情况孵育 1~2 h 就可以了。时间的长短根据细胞类型和细胞密度等实验情况而定，初次实验时可以在 1、2 和 4 h 后分别用荧光酶标仪检测，然后选取荧光强度范围比较适宜的一个时间点用于后续实验。

- (4) 孵育结束后，将激发波长设为 560 nm，发射波长设为 590 nm，进行荧光强度检测。通过对比对照组与处理组的 RFU，可以得出药物刺激的效果。

3. 检测：

- (1) 在荧光酶标仪检测。

注：仪器操作按照厂家说明书进行。

注：本试剂盒也可以在 570 nm 进行吸光度检测（设置 600 nm 为参比波长），但更建议荧光法检测，灵敏度更高。

三、结果判读

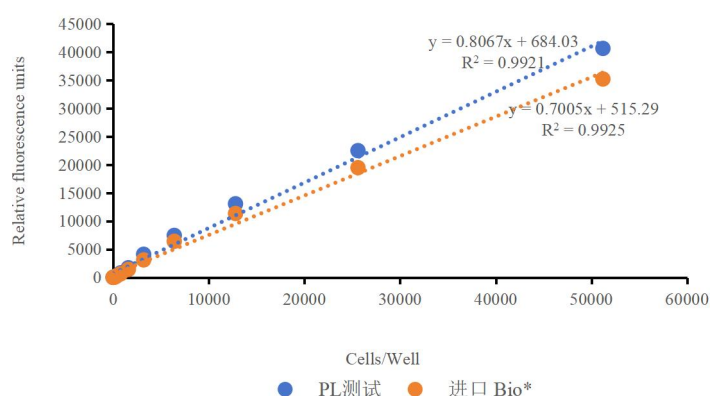


图 1. CellTiter-Live™ Resazurin Cell Viability Assay Kit(PL)与进口 Bio*孵育 3 h 对比效果图

将 HeLa 细胞按照 0、50、100、200、400、800、1600、3200、6400、12800、25600、51200 个细胞/孔设置细胞浓度梯度。每孔分别加入 10 μL 进口 Bio*和 PL Resazurin 检测试剂。孵育 3h 后检测不同细胞数量对应的荧光值，并生成对应的线性关系图， R^2 均 ≥ 0.99 。

注：实际检测结果可能因检测仪器、操作条件、细胞类型等差异产生不同，本示例仅提供参考。



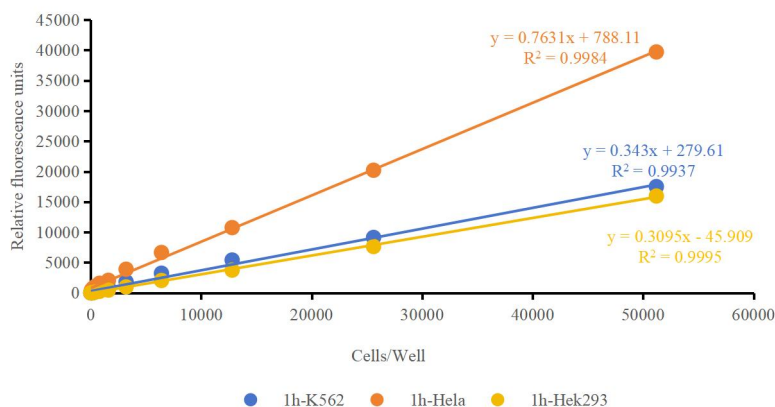


图 2.CellTiter-Live™ Resazurin Cell Viability Assay Kit 用于 0~5 万个三种细胞刃天青孵育 1 h 检测效果图。

分别将 K562、Hek293、Hela 三种细胞按照 0、50、100、200、400、800、1600、3200、6400、12800、25600、51200 个细胞/孔设置细胞浓度梯度。每孔加入 10 μL PL Resazurin 检测试剂，三种细胞孵育 1 h 后，线性关系均 $R^2 > 0.99$ 。

注：实际读数会因细胞种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

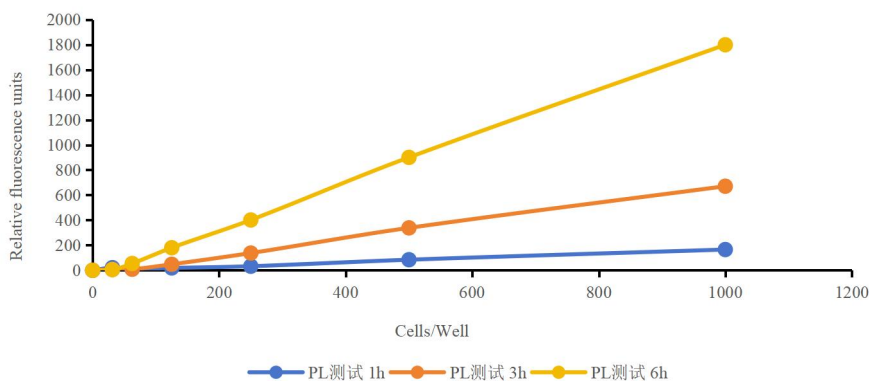


图 3.CellTiter-Live™ Resazurin Cell Viability Assay Kit 用于 0~1000 个细胞刃天青孵育 1、3、6 h 检测效果图。

将 Hela 细胞按照细胞梯度铺板 0-1000 个细胞/孔，刃天青分别孵育 1、3、6 h 后检测 RFU。对于低数量的细胞，孵育 6 h 的荧光强度比 1 h 有了明显提升。

注：实际读数会因细胞种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

常见疑问与解答：

- 问：平板读数不稳定，这是什么原因所致？

答：可能的原因之一是您的 Resazurin 试剂中的染料已经沉淀，导致染料浓度变化。这种情况下，应将试剂加热至 37 °C，然后振荡或漩涡，确保所有的组分都溶于溶液中。另一个原因是移液问题。请确保你的移液器经过校准且吸液前枪头固定牢固。

- 问：为什么荧光值异常高，以至于超过仪器的线性范围？

答：请缩短孵育时间和/或减少实验所用的细胞数量。

- 问：我使用 Resazurin 试剂时观察到高本底荧光，这是什么原因所致？

答：试剂遇光可能会分解。务必在避光条件下储存 Resazurin 试剂，且不要长时间将试剂直接暴露于光照下。

