

Trypan Blue Stain(0.4%, For Microscopy)

0.4%即用型台盼蓝，适配显微镜镜检，3 min 区分死活细胞

产品货号：C20711

产品规格：5 mL、25 mL

储运条件：RT 避光保存，常温运输

产品简介：

Trypan Blue Stain(0.4%, For Microscopy)是一款显微镜镜检专用、快速区分活细胞与死细胞的即用型台盼蓝细胞染色镜检试剂，核心组分为 0.4%台盼蓝染色液（锥虫蓝/曲利苯蓝），专为光学显微镜及血球计数板人工检测设计，可精准完成细胞计数与活力评估，为细胞培养、药物筛选、基础科研等实验提供可靠数据支撑。其核心原理基于细胞膜完整性与染料排斥效应：台盼蓝作为四磺化阴离子亲水染料，无法穿透活细胞完整的细胞膜，故活细胞保持透明不染色；死细胞或细胞膜受损细胞因膜通透性丧失，染料可渗入胞内与蛋白结合，使细胞染为深蓝色，显微镜下可直观区分并手动完成计数与活力统计。本产品为 0.4%校准浓度，无需稀释、无需额外配制，直接取适量与细胞悬液混合即可制片镜检，操作简便；配方经镜检场景优化，染色对比度高、背景干扰低，肉眼可清晰分辨死活细胞。相较于自配台盼蓝试剂，本产品优势显著：浓度精准稳定、染色均一性好、批次重复性强，有效解决传统自配试剂浓度偏差大、染色深浅不一、手动操作误差高的痛点。适用于细胞培养日常质控、细胞冻存复苏活力评估、药物毒性初步筛查、离体细胞实验计数等各类需人工镜检的场景。

细胞活力与细胞膜完整性高度相关，台盼蓝染色法是评估细胞膜完整性、判断细胞死活的标准，已成为生命科学基础研究中最常用、最可靠的细胞活力检测手段。本产品依托成熟的染料排斥原理，专为显微镜人工镜检流程优化，以标准化、即用型设计实现高效、稳定、直观的细胞计数与活力分析，可广泛用于基础细胞生物学研究、教学实验、药物初步筛选、常规细胞培养监测等关键环节。产品室温稳定保存、无菌配方、用量经济，能显著简化实验流程、提升镜检效率与数据可靠性，为科研与教学用户提供稳定可重复的检测依据。本产品通过标准化生产、优化染色效果、简化操作步骤，助力研究者快速获取准确实验数据，为细胞相关基础研究、实验教学、初步应用探索提供关键技术支撑。

注：效能等同Thermo Fisher 台盼蓝溶液，0.4%(15250061)。

应用范围：细胞培养日常质控、细胞冻存复苏活力评估、药物毒性检测、细胞疗法质控

产品特点：

- **镜检分辨清晰：**0.4%适配观测浓度，染色 3 min 即可区分死活细胞，活细胞透亮、死细胞呈深蓝色，对比直观易判读。
- **即用免配便捷：**无需稀释调配，直接混匀细胞悬液就能制片，简化实验操作。
- **浓度稳定可靠：**统一标准标定浓度，染色均匀、批次差异小，避免自行配制带来误差。
- **应用场景广泛：**可用于细胞活力检测、冻存复苏评估、药物毒性试验、细胞与制药质控等场景。

产品组分：

组分	50 T	250 T
A. Trypan Blue Stain(0.4%, For Microscopy)	5 mL	25 mL

注：按照每个样品使用 100 μ L Trypan Blue Stain(0.4%, For Microscopy)计算。

注意事项：

- 本产品为无菌试剂，使用时最好在超净台内进行，避免细菌污染。如有必要，可以适当分装后使用。



- 本产品中的台盼蓝染色液经过优化，通常在室温保存条件下不会出现沉淀，但如果长时间存放或保存温度过低，可能会出现少量颗粒状沉淀，可在 37℃ 水浴约 10 min 以充分溶解沉淀，沉淀完全溶解后即可正常使用。
- 本产品含台盼蓝，对人体有毒，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 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：

- 将试剂盒各组分恢复至室温，准备足量PBS缓冲液，胰酶。

2. 仪器准备：

- 细胞计数仪。

3. 对照组设置：

组别	台盼蓝	样品细胞
空白对照	-	不做任何处理
阴性对照	+	不做任何处理
实验组	+	实验组细胞

4. 细胞准备：

- 根据实验设计，对细胞进行相应的药物处理。

二、操作步骤

方案一：显微镜检测（适用于悬浮细胞）

1. 细胞准备：

- （1）将细胞按照实验设计进行处理。
- （2）1000 rpm，室温离心 5 min 收集细胞，使用适量体积的 PBS 重悬细胞。

2. 细胞染色：

- （1）吸取 100 μL 重悬的细胞到一塑料离心管内，加入 100 μL 组分 A (Trypan Blue Stain(0.4%, For Microscopy))，轻轻混匀，染色 3 min。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 3~10 min。

注：染色 3 min 时间已经足够，染色时间可以更长一些，但不宜超过 10 min。

注：染料的使用量可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整。建议台盼蓝染与细胞悬液比例在 1 : 1~1 : 10 之间进行调整。

样本	1	5	10
台盼蓝	100 μL	500 μL	1000 μL

3. 检测：

- （1）吸取 10 μL 经过染色的细胞，用血细胞计数板计数。

注：如果要比较精确地进行定量，每个细胞样品至少数 500 个细胞，数出蓝色细胞和细胞总数。

- （2）细胞存活率 = (总细胞数 - 总着色细胞数) / 细胞总数 × 100%。

方案二：细胞计数仪检测（适用于贴壁细胞）

1. 细胞处理：

- a. 将细胞培养基吸出至适合的离心管内备用。贴壁细胞用少量 PBS 清洗一遍，清洗后的 PBS 吸出后同样转移到盛装培养基的离心管内，1000 rpm，室温离心 5 min。
- b. 加入适量的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。

- c. 关键：加入 a 步骤离心管内备用的细胞培养基，终止消化。
- d. 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。
- e. 收集 a 步骤与 d 步骤中的细胞。



f.用 PBS 重悬细胞。

注：胰酶消化步骤对于贴壁细胞很关键。消化时间过短，细胞需要用力吹打才能脱落容易造成机械损伤，导致细胞凋亡的假阳性；消化时间过长，同样会造成细胞凋亡的假阳性。

2. 细胞染色：

(1) 吸取 100 μL 重悬的细胞到一塑料离心管内，加入 100 μL 组分 A (Trypan Blue Stain(0.4%,For Microscopy))，轻轻混匀，染色 3 min。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 3~10 min。

注：染色 3 min 时间已经足够，染色时间可以更长一些，但不宜超过 10 min。

注：染料的使用量可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整。建议台盼蓝染与细胞悬液比例在 1 : 1~1 : 10 之间进行调整。

样本	1	5	10
台盼蓝	100 μL	500 μL	1000 μL

3. 检测：

(1) 吸取 10 μL 经过染色的细胞，用血细胞计数板计数。

注：如果要比较精确地进行定量，每个细胞样品至少数 500 个细胞，数出蓝色细胞和细胞总数。

(2) 细胞存活率 = (总细胞数 - 总着色细胞数) / 总细胞数 $\times 100\%$ 。

4. 血球计数板使用方法

(1) 用移液枪吸取少量染好的细胞悬液，沿着盖玻片边缘轻轻加入，让液体靠毛细作用自然充满计数室。

(2) 每个大方格(1 mm^2)里的细胞数，最好在 20~50 个之间；如果超过 200 个，说明太密了，要重新稀释再计数。

(3) 计算每 mL 细胞数目：Cells/mL = 1 mm^2 大方格内的平均细胞数 $\times$ 稀释倍数 $\times 10^4$ ；

(4) 总细胞数目：Total cells = (Cells/mL) $\times$ 最初制备单细胞悬液的总体积

(5) 细胞活力值：Viability(%) = (总细胞数 - 总着色细胞数) / 总细胞数 $\times 100\%$

三、结果判读：

结果判读：

● 每 mL 细胞浓度公式：细胞浓度 (个/mL) = 每个大方格平均细胞数 $\times$ 稀释倍数 $\times 10^4$

例：数了 4 个大方格，分别是 28、30、30、32 个细胞，则平均为 30 个细胞，稀释倍数是 2 倍 (1 : 1 和台盼蓝混合)。

计算如下：30 $\times 2 \times 10^4 = 6 \times 10^5$ 个/mL。

● 总细胞数公式：总细胞数 = 细胞浓度 $\times$ 最初制备的细胞悬液总体积。

例：上面算出来是 6×10^5 个/mL，你一共配了 2 mL 悬液

计算如下：6 $\times 10^5 \times 2 = 1.2 \times 10^6$ 个

● 细胞活力百分比公式：细胞活力(%) = (总细胞数 - 总着色细胞数) / 总细胞数 $\times 100\%$

例：数到总细胞 1.2×10^6 个，死细胞 (着色细胞) 0.2×10^6 个

计算如下：(1.2 $\times 10^6 - 0.2 \times 10^6$) / 1.2 $\times 10^6 \times 100\% \approx 83.33\%$

注：计数原则：计上不计下、计左不计右，压线细胞只算两边。

常见疑问与解答：

● 问：台盼蓝溶液染色之前，细胞是否需要水洗去除培养基？

答：台盼蓝会结合到血清蛋白和细胞蛋白，这会导致高的背景染色。如果背景太暗，计数前细胞应离心下来并在非蛋白培养基、缓冲液或普通生理盐水中重悬。

● 问：C20710与C20711该如何选择呢？

货号	产品名称	适用场景	主要用途
C20710	台盼蓝染色液 (2 $\times$ 细胞计数仪专用)	自动化细胞计数仪	专为细胞计数仪适配，快速检测细胞活力与浓度
C20711	台盼蓝染色液 (0.4%显微镜镜检专用)	普通光学显微镜/血球计数板	适配镜下人工观察，手动计数区分死活细胞

