

台盼蓝染色液(0.2%)使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8077	Trypan Blue Stain Solution,0.2%	100mL/500mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

室温避光储存，有效期 12 个月

【概述】

台盼蓝 (Trypan Blue) 是细胞培养中鉴定细胞活性最常用的染料之一，主要用于检测细胞膜的完整性。

- **原理：**活细胞的细胞膜结构完整，具有选择通透性，能够排斥 (Exclude) 台盼蓝，故不着色；而死细胞或细胞膜受损的细胞，其通透性增加，染料可进入细胞内与细胞质结合，使细胞呈现明显的蓝色。
- **活体染色：**本品亦可被巨噬细胞吞噬，用于巨噬细胞的活体染色鉴别。

【使用方法】

- 1. 单细胞悬液制备：**
 - a. 用胰酶或 EDTA 消化贴壁细胞，悬浮细胞可直接收集，建议使用 PBS 或 HBSS 洗涤细胞 1-2 次，以去除培养基中残留的血清蛋白（血清会显著干扰背景颜色）。
 - b. 收集细胞时用 300×g (约 1200 rpm) 离心 5 min，弃上清。
 - c. 用 PBS 或合适缓冲液重悬，制备成单细胞悬液，并进行适当稀释（建议细胞密度在 1×10^6 cells/mL 左右）。
- 2. 染色程序：**
 - a. 将细胞悬液与 0.2% 台盼蓝溶液按 4:1 比例充分混匀（例如：80 μ L 细胞悬液加入 20 μ L 台盼蓝）。此时台盼蓝的终浓度为 0.04%。
 - b. 室温下染色 3-5 min。**注：染色时间严禁超过 10 min，否则会导致活细胞产生假阳性着色。**
- 3. 细胞计数**
 - a. 取约 10 μ L 混匀液滴入血细胞计数板或自动细胞计数仪载片。

b. 特征辨别:

死细胞: 明显蓝色, 体积通常略有膨大, 轮廓模糊。

活细胞: 无色透明, 保持原有形态, 有光泽。

c. 计算公式:

细胞存活率 (%) = 活细胞总数 / (活细胞总数 + 死细胞总数) × 100%

【注意事项】

1. **蛋白质干扰:** 染液会与血清蛋白结合产生深蓝背景。若背景过深影响观察, 请先离心弃上清并用无蛋白缓冲液重悬细胞。
2. **操作速度:** 为保证准确性, 建议在染色后 10 min 内完成计数。
3. **聚团处理:** 若细胞出现严重团聚, 计数前应使用 200 目筛网过滤或通过枪头反复吹吸吹散, 否则会严重影响计算精度。
4. **安全防护:** 台盼蓝被列为潜在致癌物质。操作时请严格执行生物实验室标准防护 (实验服、手套、口罩)。