

产品组成:

| 规格 | 100T |
|---------------|-------|
| 试剂 A: 包被液 A | 10ml |
| 试剂 B: 细胞染色液 B | 2.5ml |
| 试剂 C: 洗涤液 | 30ml |

储存条件: 2-8℃保存; 染色液开盖后 2-8℃避光保存, 长期不用-20℃避光保存。

有效期: 一年。

产品简介:

细胞粘附是指细胞与细胞之间及细胞与细胞外基质之间的粘附, 细胞粘附是细胞维持形态结构与功能的生物现象, 是细胞间信息交流的一种形式。而信息交流的可溶递质称细胞粘附分子(cell adhesion molecule, CAM)。细胞粘附分子是参与细胞与细胞之间及细胞与细胞外基质之间相互作用的分子。是一类独立的分子结构, 是通过识别与其粘附的特异性受体而发生相互间的粘附现象。

细胞的生长、发育、分化及代谢状态和外界细胞因子、炎症介质反应等均可以影响细胞粘附, 细胞粘附也可能是肿瘤细胞易发生浸润、转移等现象的分子基础。

细胞粘附检测试剂盒含全套试剂, 通过活细胞染色探针 BBcellProbe™ WT6 染色粘附的活细胞数量来反应细胞的粘附能力变化。

本试剂盒含有包被液, 使用方便快速, 可以进行高通量检测。本试剂盒使用比色法进行检测, 如果需要荧光法检测的。

本试剂盒适合进行常规的总体粘附性能的检测。如果需要使用特定包被剂以检测特异通路的特异性细胞粘附。

使用方法:

注意事项:

1. 本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。
2. 使用前请仔细阅读产品说明书。
3. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖和管内壁上的液体离心至管底, 避免开盖时试剂损失。
4. 禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
5. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
6. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿, 可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
7. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。如果试剂不小心接触皮肤或眼睛, 应立即用水冲洗。
8. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

产品特点:

方便: 可用酶标仪检测;

快速: 最快 1 小时内即可完成实验;

灵敏: 数据可靠, 重现性好, 线性范围更宽;

准确: 试剂本身稳定性高, 实验结果稳定可靠。

检测方法:

酶标仪

试剂盒以外自备试剂和仪器:

PBS 培养基 移液器及吸头 离心机 酶标仪

使用方法:

使用注意事项:

- 1、螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖内壁上的液体收集至管底, 避免开盖时液体损失导致试剂量不够用。
- 2、细胞处理需要小心操作, 尽量避免人为的损伤细胞。离心力在不损失细胞的前提下尽可能小, 重悬细胞是动作要轻柔, 避免多次反复的激烈吹打。不用涡旋振荡器。
- 3、染色培养时间根据细胞种类的不同和每孔内细胞数量的多少而异。一般情况下, 白细胞较难染色, 因此需要较长的培养时间。培养时间一般为 1-4 小时, 但在培养 30 分钟左右即可取出肉眼观察染色程度 (根据细胞种类而定, 需要摸索一下条件)。当使用标准 96 孔板时, 贴壁细胞的最小接种量至少为 1,000 个/孔 (100 μ l 培养基)。检测白细胞时的灵敏度相对较低, 因此推荐接种量不低于 2,500 个/孔 (100 μ l 培养基)。如果要使用 24 孔板或 6 孔板实验, 请先计算每孔相应的接种量, 并按照每孔培养基总体积的 10% 加入染色液 B。
- 4、有条件的情况下建议采用多通道移液器, 可以减少平行孔间的差异。加染色液 B 试剂时, 建议斜贴着培养板壁加, 不要插到培养基液面下加, 容易产生气泡, 会干扰 OD 值读数。
- 5、OD 值在 0.4-2.0 之间均可, 最大值控制在 1.0 左右为宜, 小于 0.4 或大于 2.0 请调整接种量和培养时间。

包被:

- 1、96 孔板每孔加入 100ul 包被液。
- 2、将培养板置 2-8 $^{\circ}$ C 过夜。
- 3、移除包被液, 用洗涤液洗涤 2-3 次。

细胞接种:

- 1、待测定细胞处理好后, 用胰酶消化, PBS 洗涤, 然后用相应培养基重悬, 制成细胞悬液。
- 2、按 5×10^4 细胞/孔接种 96 孔板, 建议设 3-5 个复孔。同时设立对照组, 即孵育后不弃上清组。
- 3、放 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 30 分钟-1 小时。
- 4、取出培养板, 吸弃培养基。
注: 对照孔培养基不要吸除。
- 5、然后用相应的培养基洗涤 2-3 次。
- 6、每孔加入 100ul 新鲜培养基。

粘附率检测:

- 1、96 孔板每孔加入 10ul 细胞染色液 B。
- 2、37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟-4 小时。
注: 不同细胞需要孵育的时间差异较大, 需要摸索最佳孵育时间, 一般孵育 30 分钟后拿出培养板检测对照细胞孔的 450nm 的 OD 值, 达到 0.8-1.0 即可。
- 3、测定样品孔 OD 值。测定 450 nm 各孔的吸光值, 如无 450nm 滤光片, 可以使用 450-490nm 的滤光片。
- 4、细胞粘附率计算。
将各测试孔的 OD 值减去空白孔 (未加细胞孔) OD 值。各重复孔的 OD 值取平均数。
$$\text{细胞粘附率}\% = ((\text{待测细胞 OD} - \text{空白 OD}) / (\text{对照细胞 OD} - \text{空白 OD})) \times 100$$