

V 1.0.0

GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay

细胞活力检测试剂盒

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

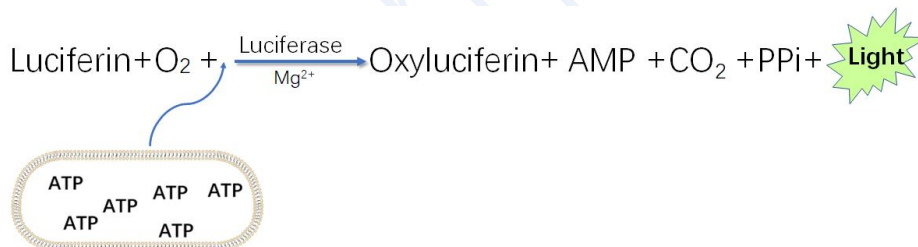
产品信息:

产品编号	产品名称	规格
GM-040504A	GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay 细胞活力检测试剂盒	10 mL (100 次)
GM-040504B		10 × 10 mL (1000 次)
GM-040504C		100 mL (1000 次)
GM-040504D		10 × 100 mL (10000 次)

检测原理:

生物体细胞内最重要的能量来源是 ATP，是衡量细胞新陈代谢水平的重要指标。在同种细胞，近似的培养条件下，ATP 的含量与活细胞数目具有良好的线性关系。即可通过 ATP 含量反应活细胞的数目。萤火虫荧光素酶 (Firefly luciferase) 是一种分子量约为 61 kDa 的蛋白，在 ATP、镁离子和氧气存在的条件下，其能够把荧光素 (luciferin) 催化成氧化荧光素 (oxyluciferin)，在氧化的过程中会发出波长为 560 nm 左右的生物荧光。即该反应为 ATP 依赖的发光反应。其发光强度与 ATP 含量线性相关。

检测原理如图所示:



细胞活力检测试剂盒 (GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay) 的特点是操作非常简便，实验前无需对细胞进行清洗或收集，而且可以直接使用，对细胞的裂解和检测一步完成，省去了混合试剂的步骤，节省了实验时间。且在一定的实验时间内发光值相对稳定，检测结果准确可靠。

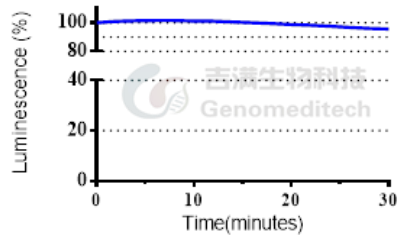


图2: 本产品对人B淋巴瘤细胞30 min稳定性检测效果(96孔板)。细胞数量10000个/孔(悬液),3复孔,取均值。

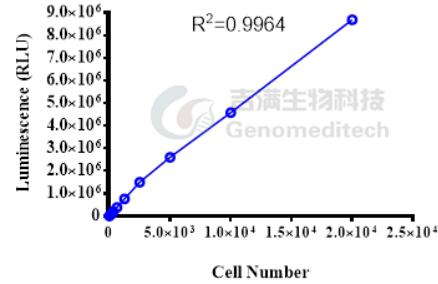


图3: 本产品对人B淋巴瘤细胞的检测效果显示线性范围较宽,在2万个细胞范围内呈现良好的线性关系。首孔细胞数量39个/孔(悬液),依次为78、156、312、625、1250、2500、5000、10000、20000个/孔。3复孔,取均值。

注:实际读数会因各种原因存在差异,图中数据仅供参考。

运输和复温:

干冰运输。使用前完全恢复室温即可。

保存条件:

-80°C 避光保存,未开封试剂有效期一年;如果-20°C 避光保存,推荐2个星期以内使用。拆封后推荐分装(避光)。不建议长时间放在室温。

实验准备:

1. 主要实验耗材与设备: 200 μ L 移液器或者排枪;不透光白色酶标板或黑色酶标板;多功能酶标仪或者其他能够检测生物发光的仪器。
2. 反应温度: 酶促反应对温度较为敏感,请将细胞培养板,检测试剂,酶标仪(可在机器设定温度)平衡至室温(最好20-25°C)时再使用;检测试剂复温环境不能超过25°C。
3. 检测仪器设置: 以Molecular Devices Spectra Max L机器为例。PMT Setting (检测器参数设置): AutoRange; Target Calibration Wavelength (校准波长): 570 nm (Firefly Luciferase)。选择 shake before Read。
4. 检测板: 为防止孔间干扰,推荐使用不透光白色酶标板或者黑色酶标板;如测量光度值较高,为避免互相干扰,也可隔孔上样。
5. 如样品较多,推荐使用排枪添加检测试剂。
6. 实验中请穿实验服并戴一次性手套。

实验步骤:

1. 裂解细胞

- a) 贴壁细胞：推荐汇合度在 90% 以上。不用吸除细胞培养基，通常加入与培养基同体积的混合试剂即可。
- b) 悬浮细胞：只要细胞生长良好，一般无密度要求。其他同贴壁细胞。

推荐使用量

细胞培养皿	384 孔板	96 孔板
培养基体积	25 μL	100 μL
添加试剂体积	25 μL	100 μL

2. 直接加入试剂后用枪头吹打 5 次，使细胞裂解更充分。等待 10 min，使细胞充分裂解。
3. 用枪头吹打时尽量不要有泡沫和气泡出现。
4. 上样
每孔吸取 100 μL 混合液（检测试剂+细胞培养基）到白色检测板。（如样本量较大推荐用排枪吸）
5. 荧光检测
设置酶标仪参数（参考 **实验准备 3**）。将白色检测板放入酶标仪。震动几秒。检测即可。